

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/JP05/003694

International filing date: 25 February 2005 (25.02.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: JP
Number: 2004-053361
Filing date: 27 February 2004 (27.02.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 14 April 2005 (14.04.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

日本特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

25.02.2005

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2004年 2月27日
Date of Application:

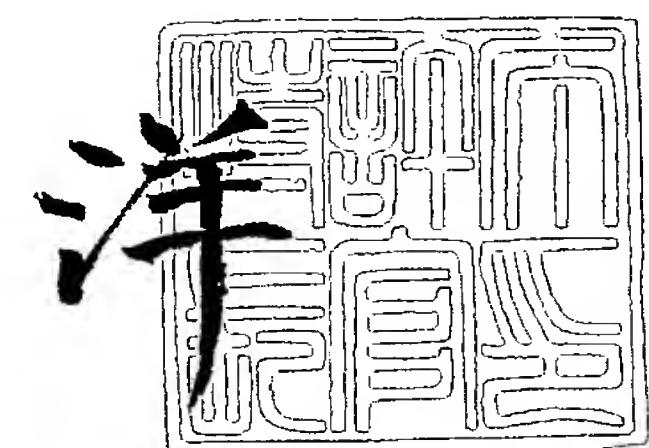
出願番号 特願2004-053361
Application Number:
[ST. 10/C] : [JP2004-053361]

出願人 協和醸酵工業株式会社
Applicant(s):

2005年 3月31日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小川



【書類名】 特許願
【整理番号】 H16-0012T4
【提出日】 平成16年 2月27日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 C12P 13/00
【発明者】
【住所又は居所】 山口県防府市協和町1番1号 協和醸酵工業株式会社 生産技術
研究所内
【氏名】 橋本 信一
【発明者】
【住所又は居所】 山口県防府市協和町1番1号 協和醸酵工業株式会社 生産技術
研究所内
【氏名】 寺園 浩一
【発明者】
【住所又は居所】 山口県防府市協和町1番1号 協和醸酵工業株式会社 生産技術
研究所内
【氏名】 安原 昭典
【発明者】
【住所又は居所】 山口県山口市大字吉敷2645-27
【氏名】 松下 一信
【代表者】 松田 譲
【手数料の表示】
【予納台帳番号】 008187
【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
【物件名】 特許請求の範囲 1
【物件名】 明細書 1
【物件名】 要約書 1

【書類名】特許請求の範囲**【請求項1】**

エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入して得られる微生物を培地に培養し、培養物中にL-アミノ酸を生成、蓄積させ、該培養物よりL-アミノ酸を採取することを特徴とするL-アミノ酸の製造法。

【請求項2】

エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAが、コリネバクテリウム(*Corynebacterium*)属、エシェリヒア(*Escherichia*)属、シュードモナス属(*Pseudomonas*)属、アゾトバクター(*Azotobacter*)属、サルモネラ(*Salmonella*)属およびラクトバチルス(*Lactobacillus*)属に属する微生物からなる群より選ばれる微生物由来のDNA、または該DNAとストリンジエントな条件下でハイブリダイズするDNAであることを特徴とする、請求項1記載の製造法。

【請求項3】

エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAが、コリネバクテリウム・グルタミカム(*Corynebacterium glutamicum*)、コリネバクテリウム・ジフテリア(*Corynebacterium diphtheriae*)、エシェリヒア・コリ(*Escherichia coli*)、シュードモナス・フルオレッセンス(*Pseudomonas fluorescens*)、アゾトバクター・ビネランディー(*Azotobacter vinelandii*)、サルモネラ・ティフィムリウム(*Salmonella typhimurium*)およびラクトバチルス・プランタラム(*Lactobacillus plantarum*)に属する微生物からなる群より選ばれる微生物由来のDNA、または該DNAとストリンジエントな条件下でハイブリダイズするDNAであることを特徴とする、請求項1記載の製造法。

【請求項4】

コリネバクテリウム属に属する微生物由来のDNAが、配列番号3または5記載の塩基配列を有するDNAであり、エシェリヒア属に属する微生物由来のDNAが、配列番号7記載の塩基配列を有するDNAであり、シュードモナス属に属する微生物由来のDNAが、配列番号9記載の塩基配列を有するDNAであり、アゾトバクター属に属する微生物由来のDNAが、配列番号11記載の塩基配列を有するDNAであり、サルモネラ属に属する微生物由来のDNAが、配列番号13記載の塩基配列を有するDNAであり、ラクトバチルス属に属する微生物由来のDNAが、配列番号15記載の塩基配列を有するDNAである、請求項2記載の製造法。

【請求項5】

エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAが、エシェリヒア・コリDH α /pCS-CGndh(FERM BP-08633)の保有するプラスミドpCS-CGndhの有するエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAまたは該DNAとストリンジエントな条件下ハイブリダイズし、かつエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするDNAである、請求項1記載の製造法。

【請求項6】

エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼが、配列番号4、6、8、10、12、14および16記載のアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチド、または該ポリペプチドの有するアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼ活性を有するポリペプチドであることを特徴とする請求項1の製造法。

【請求項7】

エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼが、エシェリヒア・コリDH α /pCS-CGndh(FERM BP-08633)の保有するプラスミドpCS-CGndhの有するエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAにコードされるポリペプチド、または該ポリペプチドの有するアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼ活性を有するポリペプチドであることを特徴とする請求項1の製造法。

【請求項8】

エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入する微生物が、エシエリヒア (*Escherichia*) 属、コリネバクテリウム属 (*Corynebacterium*) 、ブレビバクテリウム (*Brevibacterium*) 属、アースロバクター (*Arthrobacter*) 属、オーレオバクテリウム (*Aureobacterium*) 属、セルロモナス (*Cellulomonas*) 属、クラビバクター (*Clavibacter*) 属、クルトバクテリウム (*Curtobacterium*) 属、ミクロバクテリウム (*Microbacter*) 属、ピメロバクター (*Pimerobacter*) 属およびバチルス (*Bacillus*) 属に属する属 (*erium*) 属、微生物からなる群より選ばれる微生物である、請求項1～7いずれか1項記載の製造法。

【請求項9】

エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入する微生物が、エシエリヒア属に属する微生物である、請求項1～7いずれか1項記載の製造法。

【請求項10】

エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入する微生物が、エシエリヒア・コリに属する微生物である、請求項1～7いずれか1項記載の製造法。

【請求項11】

エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入する微生物が、コリネバクテリウム属に属する微生物からなる群より選ばれる微生物である、請求項1～7いずれか1項記載の製造法。

【請求項12】

エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入する微生物が、コリネバクテリウム・グルタミカム (*Corynebacterium glutamicum*) 、コリネバクテリウム・フラバム (*Corynebacterium flava*) 、コリネバクテリウム・ラクトファーメンタム (*Corynebacterium lactofermentum*) およびコリネバクテリウム・エフィカシス (*Corynebacterium efficacis*) に属する微生物からなる群より選ばれる微生物である、請求項1～7いずれか1項記載の製造法。

【請求項13】

エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入する微生物が、コリネバクテリウム・グルタミカムに属する微生物である、請求項1～7いずれか1項記載の製造法。

【請求項14】

L-アミノ酸が、L-グルタミン酸、L-グルタミン、L-リジン、L-アルギニン、L-シトルリン、L-スレオニン、L-メチオニン、L-バリン、L-イソロイシン、L-ロイシン、L-トリプトファン、L-チロシン、L-フェニルアラニン、L-プロリン、L-セリンおよびL-ヒスチジンからなる群より選ばれるL-アミノ酸である、請求項1～13いずれか1項記載の製造法。

【請求項15】

L-アミノ酸が、L-グルタミン酸、L-グルタミンおよびL-リジンからなる群より選ばれるアミノ酸である、請求項1～13いずれか1項記載の製造法。

【請求項16】

エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入して得られるコリネバクテリウム属に属する微生物。

【請求項17】

エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入して得られるコリネバクテリウム・グルタミカムに属する微生物。

【請求項18】

エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAが、コリネバクテリウム属、エシェリヒア属、シュードモナス属、アゾトバクター属、サルモネラ属およびラクトバチルス属に属する微生物からなる群より選ばれる微生物由来のDNA、または該DNAとストリングェントな条件下でハイブリダイズするDNAである、請求項16または17記載の微生物。

【請求項19】

エネルギー非産生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAが、コリネバクテリウム・グルタミカム、コリネバクテリウム・ジフテリア、エシェリヒア・コリ、シュードモナス・フルオレッセンス、アゾトバクター・ビネランディー、サルモネラ・ティフィムリウムおよびラクトバチルス・プランタラムに属する微生物からなる群より選ばれる微生物由來のDNA、または該DNAとストリンジエントな条件下でハイブリダイズするDNAである、請求項16または17記載の微生物。

【請求項20】

コリネバクテリウム属に属する微生物由來のDNAが、配列番号3または5記載の塩基配列を有するDNAであり、エシェリヒア属に属する微生物由來のDNAが、配列番号7記載の塩基配列を有するDNAであり、シュードモナス属に属する微生物由來のDNAが、配列番号9記載の塩基配列を有するDNAであり、アゾトバクター属に属する微生物由來のDNAが、配列番号11記載の塩基配列を有するDNAであり、サルモネラ属に属する微生物由來のDNAが、配列番号13記載の塩基配列を有するDNAであり、ラクトバチルス属に属する微生物由來のDNAが、配列番号15記載の塩基配列を有するDNAである、請求項18記載の微生物。

【請求項21】

エネルギー非産生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAが、エシェリヒア・コリDH 5α /pCS-CGndh (FERM BP-08633)の保有するプラスミドpCS-CGndhの有するエネルギー非産生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAまたは該DNAとストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつエネルギー非産生型NADHデヒドロゲナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするDNAである、請求項16または17記載の微生物。

【請求項22】

エネルギー非産生型NADHデヒドロゲナーゼが、配列番号4、6、8、10、12、14および16記載のアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチド、または該ポリペプチドの有するアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつエネルギー非産生型NADHデヒドロゲナーゼ活性を有するポリペプチドである、請求項16または17記載の微生物。

【請求項23】

エネルギー非産生型NADHデヒドロゲナーゼが、エシェリヒア・コリDH 5α /pCS-CGndh (FERM BP-08633)の保有するプラスミドpCS-CGndhの有するエネルギー非産生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAによりコードされるポリペプチド、または該ポリペプチドの有するアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつエネルギー非産生型NADHデヒドロゲナーゼ活性を有するポリペプチドであることを特徴とする請求項16または17記載の微生物。

【請求項24】

コリネバクテリウム・グルタミカム ATCC14752/pCS-CGndh、またはコリネバクテリウム・グルタミカム FERM BP-1069/pCS-CGndh。

【請求項25】

エシェリヒア・コリDH 5α /pCS-CGndh (FERM BP-08633)。

【請求項26】

エシェリヒア・コリDH 5α /pCS-CGndh (FERM BP-08633)の保有するプラスミドpCS-CGndh。

【書類名】明細書

【発明の名称】L-アミノ酸の製造法

【技術分野】

【0001】

本発明は、L-アミノ酸の製造法に関する。

【背景技術】

【0002】

近年、微生物の電子伝達系に変異を施し、アミノ酸等の物質の生産性を向上させる試みが報告されている。

例えば、中井らは、エシェリヒア・コリのエネルギー產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを増幅させるか、またはエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを欠損させることでアミノ酸の生産性が向上することを報告している（特許文献1参照）。

【0003】

また、バチルス・サブチリス (*Bacillus subtilis*)において、エネルギー生成効率の高いチトクロムbcオキシダーゼをコードするDNAを増幅することによってリボフラビンの生産性が向上するとの報告がある（特許文献2参照）。

電子伝達系における変異が生育に及ぼす影響について、Molenaarらはコリネバクテリウム・グルタミカム (*Corynebacterium glutamicum*)のNADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを破壊したが、生育等への影響はなかったことを報告している（非特許文献1参照）。

【0004】

このように微生物の電子伝達系における変異が、該微生物による物質の生産性に影響を及ぼす可能性のあることが知られているが、どのように影響するかを予測することは難しい。

従来の方法に加えてさらに物質の生産性を向上させる方法の開発が望まれている。

【特許文献1】特開2002-17363号公報

【特許文献2】国際公開第03/072785号パンフレット

【非特許文献1】Journal of Bacteriology, 2000年, 第182巻, p. 6884-6891

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0005】

本発明の目的は、工業的に有利なL-アミノ酸の製造法を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明は以下の(1)～(26)に関する。

(1) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入して得られる微生物を培地に培養し、培養物中にL-アミノ酸を生成、蓄積させ、該培養物よりL-アミノ酸を採取することを特徴とするL-アミノ酸の製造法。

(2) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAが、コリネバクテリウム (*Corynebacterium*) 属、エシェリヒア (*Escherichia*) 属、シュードモナス属 (*Pseudomonas*) 属、アゾトバクター (*Azotobacter*) 属、サルモネラ (*Salmonella*) 属およびラクトバチルス (*Lactobacillus*) 属に属する微生物からなる群より選ばれる微生物由來のDNA、または該DNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAであることを特徴とする、上記(1)の製造法。

【0007】

(3) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAが、コリネバクテリウム・グルタミカム (*Corynebacterium glutamicum*)、コリネバクテリウム・ジフテリア (*Corynebacterium diphtheriae*)、エシェリヒア・コリ (*Escherichia coli*)、シュードモナス・フルオレッセンス (*Pseudomonas fluorescens*)、アゾトバクター・ビネラ

ンディー (Azotobacter vinelandii) 、サルモネラ・ティフィムリウム (Salmonella typ himurium) およびラクトバチルス・プランタラム (Lactobacillus plantarum) に属する微生物からなる群より選ばれる微生物由来のDNA、または該DNAとストリンジエントな条件下でハイブリダイズするDNAであることを特徴とする、上記(1)の製造法。

(4) コリネバクテリウム属に属する微生物由来のDNAが、配列番号3または5記載の塩基配列を有するDNAであり、エシェリヒア属に属する微生物由来のDNAが、配列番号7記載の塩基配列を有するDNAであり、シュードモナス属に属する微生物由来のDNAが、配列番号9記載の塩基配列を有するDNAであり、アゾトバクター属に属する微生物由来のDNAが、配列番号11記載の塩基配列を有するDNAであり、サルモネラ属に属する微生物由来のDNAが、配列番号13記載の塩基配列を有するDNAであり、ラクトバチルス属に属する微生物由来のDNAが、配列番号15記載の塩基配列を有するDNAである、上記(2)の製造法。

【0008】

(5) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAが、エシェリヒア・コリDH5 α /pCS-CGndh(FERM BP-08633)の保有するプラスミドpCS-CGndhの有するエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAまたは該DNAとストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするDNAである、上記(1)の製造法。

(6) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼが、配列番号4、6、8、10、12、14および16記載のアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチド、または該ポリペプチドの有するアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼ活性を有するポリペプチドであることを特徴とする上記(1)の製造法。

【0009】

(7) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼが、エシェリヒア・コリDH5 α /pCS-CGndh(FERM BP-08633)の保有するプラスミドpCS-CGndhの有するエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAにコードされるポリペプチド、または該ポリペプチドの有するアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼ活性を有するポリペプチドであることを特徴とする上記(1)の製造法。

(8) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入する微生物が、エシェリヒア (Escherichia) 属、コリネバクテリウム属 (Corynebacterium) 、ブレビバクテリウム (Brevibacterium) 属、アースロバクター (Arthrobacter) 属、オーレオバクテリウム (Aureobacterium) 属、セルロモナス (Cellulomonas) 属、クラビバクター (Clavibacter) 属、クルトバクテリウム (Curtobacterium) 属、ミクロバクテリウム (Micromonospora) 属、ピメロバクター (Pimerobacter) 属およびバチルス (Bacillus) 属に属する微生物からなる群より選ばれる微生物である、上記(1)～(7)いずれか1つの製造法。

【0010】

(9) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入する微生物が、エシェリヒア属に属する微生物である、上記(1)～(7)いずれか1つの製造法。

(10) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入する微生物が、エシェリヒア・コリに属する微生物である、上記(1)～(7)いずれか1つの製造法。

(11) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入する微生物が、コリネバクテリウム属に属する微生物からなる群より選ばれる微生物である、上記(1)～(7)いずれか1つの製造法。

【0011】

(12) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入する微生物が、コリネバクテリウム・グルタミカム (Corynebacterium glutamicum) 、コリネバク

テリウム・フラバム (Corynebacterium fluvum)、コリネバクテリウム・ラクトファーメンタム (Corynebacterium lactofermentum) およびコリネバクテリウム・エフィカシス (Corynebacterium efficasis) に属する微生物からなる群より選ばれる微生物である、上記(1)～(7)いずれか1つの製造法。

(13) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入する微生物が、コリネバクテリウム・グルタミカムに属する微生物である、上記(1)～(7)いずれか1つの製造法。

【0012】

(14) L-アミノ酸が、L-グルタミン酸、L-グルタミン、L-リジン、L-アルギニン、L-シトルリン、L-スレオニン、L-メチオニン、L-バリン、L-イソロイシン、L-ロイシン、L-トリプトファン、L-チロシン、L-フェニルアラニン、L-プロリン、L-セリンおよびL-ヒスチジンからなる群より選ばれるL-アミノ酸である、上記(1)～(13)いずれか1つの製造法。

(15) L-アミノ酸が、L-グルタミン酸、L-グルタミンおよびL-リジンからなる群より選ばれるアミノ酸である、上記(1)～(13)いずれか1つの製造法。

【0013】

(16) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入して得られるコリネバクテリウムに属する微生物。

(17) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入して得られるコリネバクテリウム・グルタミカムに属する微生物。

(18) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAが、コリネバクテリウム属、エシェリヒア属、シュードモナス属、アゾトバクター属、サルモネラ属およびラクトバチルス属に属する微生物からなる群より選ばれる微生物由来のDNA、または該DNAとストリンジエントな条件下でハイブリダイズするDNAである、上記(16)または(17)の微生物。

【0014】

(19) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAが、コリネバクテリウム・グルタミカム、コリネバクテリウム・ジフテリア、エシェリヒア・コリ、シュードモナス・フルオレッセンス、アゾトバクター・ビネランディー、サルモネラ・ティフィムリウムおよびラクトバチルス・プランタラムに属する微生物からなる群より選ばれる微生物由来のDNA、または該DNAとストリンジエントな条件下でハイブリダイズするDNAである、上記(16)または(17)の微生物。

(20) コリネバクテリウム属に属する微生物由来のDNAが、配列番号3または5記載の塩基配列を有するDNAであり、エシェリヒア属に属する微生物由来のDNAが、配列番号7記載の塩基配列を有するDNAであり、シュードモナス属に属する微生物由来のDNAが、配列番号9記載の塩基配列を有するDNAであり、アゾトバクター属に属する微生物由来のDNAが、配列番号11記載の塩基配列を有するDNAであり、サルモネラ属に属する微生物由来のDNAが、配列番号13記載の塩基配列を有するDNAであり、ラクトバチルス属に属する微生物由来のDNAが、配列番号15記載の塩基配列を有するDNAである、上記(18)の微生物。

【0015】

(21) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAが、エシェリヒア・コリDH5 α /pCS-CGndh(FERM BP-08633)の保有するプラスミドpCS-CGndhの有するエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAまたは該DNAとストリンジエントな条件下でハイブリダイズし、かつエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするDNAである、上記(16)または(17)の微生物。

(22) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼが、配列番号4、6、8、10、12、14および16記載のアミノ酸配列からなる群より選ばれるアミノ酸配列を有するポリペプチド、または該ポリペプチドの有するアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつエネルギー非產生型NADHデヒ

ドロゲナーゼ活性を有するポリペプチドである、上記（16）または（17）の微生物。

【0016】

(23) エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼが、エシェリヒア・コリDH5 α /pCS-CGndh(FERM BP-08633)の保有するプラスミドpCS-CGndhの有するエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAによりコードされるポリペプチド、または該ポリペプチドの有するアミノ酸配列において、1以上のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼ活性を有するポリペプチドであることを特徴とする上記（16）または（17）の微生物。

(24) コリネバクテリウム・グルタミカム ATCC14752/pCS-CGndh、またはコリネバクテリウム・グルタミカム FERM BP-1069/pCS-CGndh。

【0017】

(25) エシェリヒア・コリDH5 α /pCS-CGndh (FERM BP-08633)。

(26) エシェリヒア・コリDH5 α /pCS-CGndh (FERM BP-08633) の保有するプラスミドpCS-CGndh。

【発明の効果】

【0018】

本発明により、工業的に有利な、L-アミノ酸の製造法を提供することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0019】

本発明に用いられるエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼ（以下、NADHポリペプチドともいう）は、好気性細菌の電子伝達系においてプロトンポンプとして作用するNADHデヒドロゲナーゼ複合体のうち、電子1個あたり排出できるプロトン分子数がゼロであるNADHデヒドロゲナーゼ複合体を構成するNADHデヒドロゲナーゼの活性（以下、エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼ活性と略す）を有するポリペプチドであれば、いずれのポリペプチドであってもよい。

【0020】

NADHポリペプチドとしては、例えば、コリネバクテリウム (*Corynebacterium*) 属、エシェリヒア (*Escherichia*) 属、シュードモナス属 (*Pseudomonas*) 属、アゾトバクター (*Azotobacter*) 属、サルモネラ (*Salmonella*) 属、ラクトバチルス (*Lactobacillus*) 属に属する微生物等に由来する公知のNADHポリペプチドをあげることができる。

コリネバクテリウム属に属する微生物としては、コリネバクテリウム・グルタミカム (*Corynebacterium glutamicum*)、コリネバクテリウム・ジフテリア (*Corynebacterium diphtheriae*) に属する微生物等をあげることができる。

【0021】

エシェリヒア (*Escherichia*) 属に属する微生物としては、エシェリヒア・コリ (*Escherichia coli*) に属する微生物等をあげることができる。

シュードモナス属に属する微生物としては、シュードモナス・フルオレッセンス (*Pseudomonas fluorescens*) に属する微生物等をあげることができる。

アゾトバクター属に属する微生物としては、アゾトバクター・ビネランディー (*Azotobacter vinelandii*) に属する微生物をあげることができる。

【0022】

サルモネラ属に属する微生物としては、サルモネラ・ティフィムリウム (*Salmonella typhimurium*) に属する微生物をあげることができる。

ラクトバチルス属に属する微生物としては、ラクトバチルス・プランタラム (*Lactobacillus plantarum*) に属する微生物をあげることができる。

これらの微生物に由来する、公知のNADHポリペプチドとしては、例えば、コリネバクテリウム属に属する微生物に由来する配列番号4または6記載のアミノ酸配列を有するポリペプチド、エシェリヒア属に属する微生物に由来する配列番号8記載のアミノ酸配列を有するポリペプチド、シュードモナス属に属する微生物に由来する配列番号10記載のアミノ酸配列を有するポリペプチド、アゾトバクター属に属する微生物に由来する配列番号

12記載のアミノ酸配列を有するポリペプチド、サルモネラ属に属する微生物に由来する配列番号14記載のアミノ酸配列を有するポリペプチド、ラクトバチルス属に属する微生物に由来する配列番号16記載のアミノ酸配列を有するポリペプチドをあげることができるもの。

【0023】

また、エシェリヒア・コリDH5 α /pCS-CGndh (FERM BP-08633)の保有するプラスミドpCS-CGndhが有する、コリネバクテリウム・グルタミカム由来のエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNA (ndh)によりコードされるポリペプチド（以下、NDHポリペプチドAと略す）もNDHポリペプチドとしてあげることができる。

さらに、本発明に用いられるNDHポリペプチドは、エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼ活性を有していれば、NDHポリペプチドAまたは公知のNDHポリペプチドの有するアミノ酸配列に1以上のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなるポリペプチドであってもよい。

【0024】

NDHポリペプチドAまたは公知のNDHポリペプチドの有するアミノ酸配列に1以上のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなるポリペプチドは、Molecular Cloning, A Laboratory Manual, Third Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press (2001)（以下、モレキュラー・クローニング第3版と略す）、Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons (1987-1997)（以下、カレント・プロトコルズ・イン・モレキュラー・バイオロジーと略す）、Nucleic Acids Research, 10, 6487 (1982)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 79, 6409 (1982)、Gene, 34, 315 (1985)、Nucleic Acids Research, 13, 4431 (1985)、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82, 488 (1985)等に記載の部位特異的変異導入法を用いて、NDHポリペプチドAまたは公知のNDHポリペプチドをコードするDNAに部位特異的変異を導入することにより、取得することができる。

【0025】

欠失、置換若しくは付加されるアミノ酸の数は特に限定されないが、上記の部位特異的変異法等の周知の方法により欠失、置換もしくは付加できる程度の数であり、1個から数十個、好ましくは1～20個、より好ましくは1～10個、さらに好ましくは1～5個である。

NDHポリペプチドAまたは公知のNDHポリペプチドの有するアミノ酸配列において1以上のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたとは、同一配列中の任意かつ1もしくは複数のアミノ酸配列中の位置において、1または複数のアミノ酸の欠失、置換若しくは付加があることを意味し、欠失、置換若しくは付加が同時に生じてもよい。

【0026】

置換若しくは付加されるアミノ酸は天然型と非天然型とを問わない。

天然型アミノ酸としては、L-アラニン、L-アスパラギン、L-アスパラギン酸、L-グルタミン、L-グルタミン酸、グリシン、L-ヒスチジン、L-イソロイシン、L-ロイシン、L-リジン、L-アルギニン、L-メチオニン、L-フェニルアラニン、L-バリン、L-セリン、L-スレオニン、L-トリプトファン、L-チロシン、L-バリン、L-システィンなどがあげられる。

【0027】

以下に、相互に置換可能なアミノ酸の例を示す。同一群に含まれるアミノ酸は相互に置換可能である。

A群：ロイシン、イソロイシン、ノルロイシン、バリン、ノルバリン、アラニン、2-アミノブタン酸、メチオニン、O-メチルセリン、t-ブチルグリシン、t-ブチルアラニン、シクロヘキシリアルアニン

B群：アスパラギン酸、グルタミン酸、イソアスパラギン酸、イソグルタミン酸、2-アミノアジピン酸、2-アミノスベリン酸

C群：アスパラギン、グルタミン

D群：リジン、アルギニン、オルニチン、2,4-ジアミノブタン酸、2,3-ジアミノプロピオン酸

E群：プロリン、3-ヒドロキシプロリン、4-ヒドロキシプロリン

F群：セリン、スレオニン、ホモセリン

G群：フェニルアラニン、チロシン

また、NDHポリペプチドAまたは公知のNDHポリペプチドに1以上のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列を有するポリペプチドが、エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼ活性を有するためには、欠失、置換若しくは付加前のポリペプチドと、少なくとも60%以上、通常は80%以上、特に95%以上の相同性を有していることが好ましい。

【0028】

アミノ酸配列や塩基配列の相同性は、Karlin and AltschulによるアルゴリズムBLAST[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 5873(1993)]やFASTA[Methods Enzymol., 183, 63 (1990)]を用いて決定することができる。このアルゴリズムBLASTに基づいて、BLASTNやBLASTXとよばれるプログラムが開発されている [J. Mol. Biol., 215, 403(1990)]。BLASTに基づいてBLASTNによって塩基配列を解析する場合には、パラメータは例えばScore=100、wordlength=12とする。また、BLASTに基づいてBLASTXによってアミノ酸配列を解析する場合には、パラメータは例えばscore=50、wordlength=3とする。BLASTとGapped BLASTプログラムを用いる場合には、各プログラムのデフォルトパラメーターを用いる。これらの解析方法の具体的な手法は公知である (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)。

【0029】

NDHポリペプチドのエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼの活性は、たとえばFEMS Microbiology Letters, 204, 271 (2001)の記載に準じて、エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼ、ユビキノン-1およびNADHを含有する反応液における275nmまたは340nmでの吸光度の減少を測定することにより測定することができる。

NDHポリペプチドをコードするDNAとしては、エネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするDNAであれば、いずれのDNAであってもよい。

【0030】

NDHポリペプチドをコードするDNAとしては、例えば、NDHポリペプチドAまたは公知のNDHポリペプチドをコードするDNAをあげることができる。

例えば、NDHポリペプチドAをコードする、エシェリヒア・コリDH5 α /pCS-CGndh (FERM BP-08633)の保有するプラスミドpCS-CGndhが有する、コリネバクテリウム・グルタミカム由来のNADHデヒドロゲナーゼをコードするDNA、配列番号4、6、8、10、12、14および16記載のアミノ酸配列を有するポリペプチドをそれぞれコードする、配列番号3、5、7、9、11、13および15記載の塩基配列を有するDNA等をあげることができる。

【0031】

また、NDHポリペプチドAまたは公知のNDHポリペプチドをコードするDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼ活性を有するポリペプチドをコードするDNAも、NDHポリペプチドをコードするDNAとしてあげることができる。

NDHポリペプチドAまたは公知のNDHポリペプチドをコードするDNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAとは、例えば、NDHポリペプチドAまたは公知のNDHポリペプチドをコードするDNAの一部、または全部をプローブとして、コロニー・ハイブリダイゼーション法、ラーク・ハイブリダイゼーション法あるいはサンプロットハイブリダイゼーション法等を用いることにより得られるDNAを意味する。具体的には、コロニーあるいはラーク由来のDNAを固定化したフィルターを用いて、0.7~1.0mol/lの塩化ナトリウム存在下、65°Cでハイブリダイゼーションを行った後、0.1~2倍濃度のSSC溶液（1倍濃度のSSC溶液の組成は、150mmol/l塩化ナトリウム、15mmol

/1クエン酸ナトリウムよりなる)を用い、65℃条件下でフィルターを洗浄することにより同定できるDNAをあげることができる。

【0032】

ハイブリダイゼーションは、モレキュラー・クローニング第3版、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー、DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University (1995)等に記載されている方法に準じて行うことができる。

NDHポリペプチドAまたは公知のNDHポリペプチドをコードするDNAとストリングエントな条件下でハイブリダイズするDNAとしては、上記BLASTやFASTA等を用いて計算したときに、NDHポリペプチドAまたは公知のNDHポリペプチドをコードするDNAの塩基配列と75%以上の相同性を有するDNA、好ましくは80%以上の相同性を有するDNA、さらに好ましくは95%以上の相同性を有するDNAをあげることができる。

【0033】

NDHポリペプチドをコードするDNAは、好気性細菌であって、電子伝達系にエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼを有する微生物から下記の方法に準じて調製することができる。電子伝達系にエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼを有する微生物としては、例えば、コリネバクテリウム・グルタミカム (*Corynebacterium glutamicum*) 等のコリネバクテリウム (*Corynebacterium*) 属、ブレビバクテリウム (*Brevibacterium*) 属、アースロバクター (*Arthrobacter*) 属、オーレオバクテリウム (*Aureobacterium*) 属、セルロモナス (*Cellulomonas*) 属、クラビバクター (*Clavibacter*) 属、クルトバクテリウム (*Curtobacterium*) 属、ミクロバクテリウム (*Microbacterium*) 属、ピメロバクター (*Pimerobacter*) 属に属する微生物等のいわゆるコリネ型細菌、エシェリヒア・コリ (*Escherichia coli*) 等のエシェリヒア (*Escherichia*) 属に属する微生物、シュードモナス・フルオレッセンス (*Pseudomonas fluorescens*) 等のシュードモナス (*Pseudomonas*) 属に属する微生物、アゾトバクター・ビネランディー (*Azotobacter vinelandii*) 等のアゾトバクター (*Azotobacter*) 属に属する微生物、サルモネラ・ティフィムリウム (*Salmonella typhimurium*) 等のサルモネラ (*Salmonella*) 属に属する微生物、ラクトバチルス・プランタラム (*Lactobacillus plantarum*) 等のラクトバチルス (*Lactobacillus*) 属に属する微生物等をあげることができる。

【0034】

上記微生物を公知の方法[例えば、Mol. Microbiol., 20, 833 (1996)に記載の方法]により培養し、培養後、公知の方法(例えば、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジーに記載の方法)により、該微生物の染色体DNAを単離精製する。

単離精製した染色体DNAを用いて、モレキュラー・クローニング第3版やカレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー、DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University Press (1995)等に記載された方法に準じてDNAライブラリーを作製する。

【0035】

DNAライブラリーを作製するためのクローニングベクターとしては、エシェリヒア・コリK12株中で自立複製できるものであれば、ファージベクター、プラスミドベクター等いずれでも使用できる。具体的には、ZAP Express [ストラタジーン社製、Strategies, 5, 58 (1992)]、λ zap II (ストラタジーン社製)、λ gt10、λ gt11 [DNA Cloning, A Practical Approach, 1, 49 (1985)]、λ TriplEx (クローンテック社製)、λ ExCell (アマシャム・ファルマシア・バイオテク社製)、pBluescript II KS(-)、pBluescript II SK(+) [ストラタジーン社製、Nucleic Acids Research, 17, 9494 (1989)]、pUC18 [Gene, 33, 103 (1985)] 等をあげることができる。

【0036】

DNAを組み込んだベクターをエシェリヒア・コリに属する微生物に導入する。

エシェリヒア・コリに属する微生物としては、エシェリヒア・コリに属する微生物であればいずれでも用いることができる。具体的には、エシェリヒア・コリXL1-Blue MRF' [

ストラタジーン社製、Strategies, 5, 81 (1992)】、エシェリヒア・コリ C600 [Genetics, 39, 440 (1954)]、エシェリヒア・コリ Y1088 [Science, 222, 778 (1983)]、エシェリヒア・コリ Y1090 [Science, 222, 778 (1983)]、エシェリヒア・コリ NM522 [J. Mol. Biol., 166, 1 (1983)]、エシェリヒア・コリ K802 [J. Mol. Biol., 16, 118 (1966)]、エシェリヒア・コリ JM109 [Gene, 38, 275 (1985)]、エシェリヒア・コリ DH5 α [J. Mol. Biol., 166, 557 (1983)] 等をあげることができる。

【0037】

モレキュラー・クローニング第3版、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー、DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University (1995)等の実験書に記載されているコロニー・ハイブリダイゼーション法、プラーカ・ハイブリダイゼーション法あるいはサザンハイブリダイゼーション法等により、得られたDNAライブラリーから目的とするクローンを取得することができる。

【0038】

ハイブリダイゼーションに用いるDNAプローブとしては、公知のNDHポリペプチドをコードするDNAまたはその一部、該DNAの塩基配列をもとに合成したDNAなどの他、公知の塩基配列を利用して設計したDNAプライマーを用いてPCRなどにより取得したDNA断片などをあげることができる。例えば、配列番号3記載の塩基配列を有する、コリネバクテリウム・グルタミカムに属する微生物のndhの塩基配列をもとに設計した配列番号1および2記載の塩基配列を有するDNAを、パーセプティブ・バイオシステムズ社製8905型DNA合成装置等を用いて化学合成し、該合成DNAをプライマーとして、コリネバクテリウム・グルタミカムに属する微生物から取得したDNA断片などを例示することができる。

【0039】

取得したDNAをそのまま、あるいは適当な制限酵素などで切斷後、常法によりベクターに組み込み、通常用いられる塩基配列解析方法、例えばABI377DNAシークエンサー(パーキン・エルマー社製)等を用いたジデオキシ法[Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 74, 5463 (1977)]により、該DNAの塩基配列を決定する。

さらに、決定された塩基配列に基づいたプライマーを調製し、染色体DNAを鑄型として、PCR法[PCR Protocols, Academic Press (1990)]により、目的とするDNAを取得することができる。

【0040】

また、決定されたDNAの塩基配列に基づいて、パーセプティブ・バイオシステムズ社製8905型DNA合成装置等を用いて化学合成することにより目的とするDNAを調製することもできる。

上記のようにして取得される本発明に用いられるポリペプチドをコードするDNAとして、例えば、エシェリヒア・コリDH5 α /pCS-CGndh (FERM BP-08633)の保有するプラスミドpCS-CGndhが有するエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAをあげることができる。該DNAは、NDHポリペプチドAをコードするDNAである。

【0041】

得られた本発明に用いられるポリペプチドをコードするDNAを宿主微生物に導入することにより、本発明のアミノ酸の製造法に用いられる微生物を作製することができる。

本発明に用いられるポリペプチドコードするDNAを宿主微生物に導入する方法としては、該DNAを適当な発現ベクターのプロモーターの下流に挿入して組換え体DNAを作製し、該組換え体DNAを宿主微生物に導入する方法をあげることができる。

【0042】

宿主微生物は、好気性細菌であれば特に限定されない。また、該微生物の電子伝達系は、特にエネルギー非產生型NADHデヒドロゲナーゼを用いるものでなくてもよい。

宿主微生物としては、例えば、エシェリヒア(*Escherichia*)属、コリネバクテリウム(*Corynebacterium*)属、ブレビバクテリウム(*Brevibacterium*)属、アースロバクター

(Arthrobacter) 属、オーレオバクテリウム (Aureobacterium) 属、セルロモナス (Cellulomonas) 属、クラビバクター (Clavibacter) 属、クルトバクテリウム (Curtobacterium) 属、ミクロバクテリウム (Microbacterium) 属、ピメロバクター (Pimerobacter) 属、エンテロバクター (Enterobacter) 属、クレブシエラ (Klebsiella) 属、セラチア (Serratia) 属、エルビニア (Erwinia) 属、バチルス (Bacillus) 属、シュードモナス (Pseudomonas) 属、アグロバクテリウム (Agrobacterium) 属、アナベナ (Anabaena) 属、クロマチウム (Chromatium) 属、ロドバクター (Rhodobacter) 属、ロドシュードモナス (Rhodopseudomonas) 属、ロドスピリウム (Rhodospirillum) 属、ストレプトマイセス (Streptomyces) 属、ザイモナス (Zymomonas) 属等に属する微生物があげられる。

【0043】

エシェリヒア属に属する微生物としては、Escherichia coli XL1-Blue、Escherichia coli XL2-Blue、Escherichia coli DH1、Escherichia coli DH5 α 、Escherichia coli MC1000、Escherichia coli KY3276、Escherichia coli W1485、Escherichia coli JM109、Escherichia coli HB101、Escherichia coli No.49、Escherichia coli W3110、Escherichia coli NY49、Escherichia coli MP347、Escherichia coli NM522等のエシェリヒア・コリに属する微生物をあげることができる。

【0044】

コリネバクテリウム属に属する微生物としては、Corynebacterium glutamicum ATCC13032、Corynebacterium glutamicum ATCC13869等のCorynebacterium glutamicum、Corynebacterium ammoniagenes ATCC6872、Corynebacterium ammoniagenes ATCC21170等のCorynebacterium ammoniagenes、Corynebacterium acetoacidophilum ATCC13870等のCorynebacterium acetoacidophilumに属する微生物等をあげることができる。

【0045】

ブレビバクテリウム属に属する微生物としては、Brevibacterium immariophilum、Brevibacterium saccharolyticum、Brevibacterium flavum、Brevibacterium lactofermentumに属する微生物等をあげることができる。

アースロバクター属に属する微生物としては、Arthrobacter citreus、Arthrobacter globiformisに属する微生物等をあげることができる。

【0046】

オーレオバクテリウム属に属する微生物としては、Aureobacterium flavescent、Aureobacterium iumsaperdae、Aureobacterium testaceumに属する微生物等をあげることができる。

セルロモナス属に属する微生物としては、Cellulomonas flavigena、Cellulomonas carotataに属する微生物等をあげることができる。

【0047】

クラビバクター属に属する微生物としては、Clavibacter michiganensis、Clavibacter rathayiに属する微生物等をあげることができる。

クルトバクテリウム属に属する微生物としては、Curtobacterium albidum、Curtobacterium citreum、Curtobacterium luteumに属する微生物等をあげることができる。

ミクロバクテリウム属に属する微生物としては、Microbacterium ammoniaphilum ATCC15354等のMicrobacterium ammoniaphilum、Microbacterium lacticum、Microbacterium imperialeに属する微生物等をあげることができる。

【0048】

ピメロバクター属に属する微生物としては、Pimerobacter simplexに属する微生物等をあげることができる。

エンテロバクター属に属する微生物としては、Enterobacter agglomerans ATCC1228等のEnterobacter agglomerans、Enterobacter aerogenes、Enterobacter amnigenus、Enterobacter asburiae、Enterobacter cloacae、Enterobacter dissolvens、Enterobacter ergoviae、Enterobacter hormaechei、Enterobacter intermedium、Enterobacter nimipressuralis、Enterobacter sakazakii、Enterobacter tayloraeに属する微生物等をあげる

ことができる。

【0049】

クレブシェラ属に属する微生物としては、Klebsiella planticolaに属する微生物等をあげることができる。

セラチア属に属する微生物としては、Serratia ficaria、Serratia fonticola、Serratia liquefaciens、Serratia entomophila、Serratia grimesii、Serratia proteamaculans、Serratia odorifera、Serratia plymuthica、Serratia rubidaea、Serratia marcescensに属する微生物等をあげることができる。

【0050】

エルビニア属に属する微生物としては、例えば、Erwinia uredovora、Erwinia carotovora、Erwinia ananas、Erwinia herbicola、Erwinia punctata、Erwinia terreus、Erwinia cacticida、Erwinia chrysanthemi、Erwinia malilotivora、Erwinia persicinus、Erwinia psidii、Erwinia quercina、Erwinia rhabontici、Erwinia rubrifaciens、Erwinia salicisに属する微生物等をあげることができる。、

バチルス属に属する微生物としては、Bacillus subtilis、Bacillus megaterium、Bacillus amyloliquefaciens、Bacillus coagulans、Bacillus licheniformis、Bacillus pumilusに属する微生物等をあげることができる。

【0051】

シュードモナス属に属する微生物としては、Pseudomonas putidaに属する微生物等をあげることができる。

アグロバクテリウム属に属する微生物としては、例えば、Agrobacterium radiobacter、Agrobacterium rhizogenes、Agrobacterium rubiに属する微生物等をあげることができる。

【0052】

アナベナ属に属する微生物としては、例えば、Anabaena cylindrica、Anabaena dolium、Anabaena flos-aquaeに属する微生物等をあげることができる。

クロマチウム属に属する微生物としては、例えば、Chromatium budei、Chromatium tepidum、Chromatium vinosum、Chromatium warmingii、Chromatium fluviatileに属する微生物等をあげることができる。

【0053】

ロドバクター属に属する微生物としては、例えば、Rhodobacter capsulatus、Rhodobacter sphaeroidesに属する微生物等をあげることができる。

ロドシュードモナス属に属する微生物としては、例えば、Rhodopseudomonas blastica、Rhodopseudomonas marina、Rhodopseudomonas palustrisに属する微生物等をあげることができます。

【0054】

ロドスピリウム属に属する微生物としては、例えば、Rhodospirillum rubrum、Rhodospirillum salexigens、Rhodospirillum salinarumに属する微生物等をあげることができます。

ストレプトマイセス属に属する微生物としては、例えば、Streptomyces ambofaciens、Streptomyces aureofaciens、Streptomyces aureus、Streptomyces fungicidicus、Streptomyces griseochromogenes、Streptomyces griseus、Streptomyces lividans、Streptomyces olivogriseus、Streptomyces rameus、Streptomyces tanashiensis、Streptomyces vinaceusに属する微生物等をあげることができます。

【0055】

ザイモモナス属に属する微生物としては、例えば、Zymomonas mobilisに属する微生物等をあげることができます。

上記宿主微生物のうち、扱いが容易であることから、コリネバクテリウム属、ブレビバクテリウム属、アースロバクター属、オーレオバクテリウム属、セルロモナス属、クラビバクター属、クルトバクテリウム属、ミクロバクテリウム属、ピメロバクター属、エシェ

リヒア属、またはバチルス属に属する微生物が好ましく用いられ、コリネバクテリウムまたはエシェリヒア属または属に属する微生物がより好ましく用いられ、特にコリネバクテリウム属に属する微生物が好ましく用いられる。

【0056】

宿主微生物への組換え体DNAの導入方法としては、上記宿主微生物へDNAを導入できる方法であればいずれも用いることができ、例えば、カルシウムイオンを用いる方法〔Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 69, 2110 (1972)〕、プロトプラスト法（特開昭63-248394）、エレクトロポレーション法〔Nucleic Acids Res., 16, 6127 (1988)〕等をあげることができる。

【0057】

発現ベクターとしては、宿主微生物において自立複製可能ないしは染色体中への組込が可能で、本発明に用いられるポリペプチドをコードするDNAを転写できる位置にプロモーターを含有しているものが用いられる。

例えば、pBTrp2、pBTac1、pBTac2（いずれもベーリングガーマンハイム社製）、pHelix1（ロシュ・ダイアグノスティクス社製）、pKK233-2（アマシャム・ファルマシア・バイオテク社製）、pSE280（インビトロジェン社製）、pGEMEX-1（プロメガ社製）、pQE-8（キヤゲン社製）、pET-3（ノバジエン社製）、pKYP10（特開昭58-110600）、pKYP200〔Agric. Biol. Chem., 48, 669 (1984)〕、pLSA1〔Agric. Biol. Chem., 53, 277 (1989)〕、pGEL1〔Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 82, 4306 (1985)〕、pBluescriptII SK(+)、pBluescript II KS(-)（ストラタジーン社製）、pTrS30〔エシェリヒア・コリJM109/pTrS30(FERM BP-5407)より調製〕、pTrS32〔エシェリヒア・コリJM109/pTrS32(FERM BP-5408)より調製〕、pPAC31(WO98/12343)、pUC19〔Gene, 33, 103 (1985)〕、pSTV28(宝酒造社製)、pUC118(宝酒造社製)、pPA1（特開昭63-233798）、pCG116、pCG1（特開平6-277082）、pCS299P(WO 00/63388)等があげられる。

【0058】

プロモーターとしては、宿主微生物中で機能するものであればいかなるものでもよい。例えば、trpプロモーター(P_{trp})、lacプロモーター(P_{lac})、 P_L プロモーター、 P_R プロモーター、 P_{SE} プロモーター等の、エシェリヒア・コリに属する微生物やファージ等に由来するプロモーター、SPO1プロモーター、SPO2プロモーター、penPプロモーター等をあげることができる。また P_{trp} を2つ直列させたプロモーター、tacプロモーター、lacT7プロモーター、let Iプロモーターのように人為的に設計改変されたプロモーター等も用いることができる。

【0059】

また、宿主微生物がコリネバクテリウム属に属する微生物である場合、P54-6プロモーター〔App1. Microbiol. Biotechnol., 53, 674-679 (2000)〕もあげられる。バチルス属に属する微生物である場合、xylAプロモーター〔App1. Microbiol. Biotechnol., 35, 594-599 (1991)〕もあげられる。

組換え体DNAは宿主微生物中で自立複製可能であると同時に、上記プロモーター、リボソーム結合配列、本発明に用いられるポリペプチドをコードするDNA、転写終結配列より構成された組換え体DNAであることが好ましい。プロモーターを制御する遺伝子が含まれていてもよい。

【0060】

リボソーム結合配列であるシャイン-ダルガノ（Shine-Dalgarno）配列と開始コドンとの間は、適当な距離（例えば6～18塩基）を有していることが好ましい。

転写終結配列は必ずしも必要ではないが、構造遺伝子の直下に転写終結配列を配置することが好ましい。

このような組換え体DNAとしては、例えばエシェリヒア・コリDH5 α /pCS-CGndh(FERM BP-08633)の保有するプラスミドpCS-CGndhをあげることができる。

【0061】

上記方法によって得られる本発明の微生物としては、例えば実施例に示されるコリネバクテリウム属に属する微生物が好ましく用いられる。

ケテリウム・グルタミカム LS-22/pCS-CGndh、コリネバクテリウム・グルタミカム ATCC14752/pCS-CGndh、コリネバクテリウム・グルタミカム FERM BP-1069/pCS-CGndhをあげることができる。

宿主微生物に導入された本発明に用いられるポリペプチドをコードするDNAは、微生物中で組換え体DNA上に存在していてもよいし、染色体上に組み込まれていてもよい。

【0062】

該DNAを染色体上に組み込む方法としては、例えば、Escherichia coli and Salmonella typhimurium、1996年、2325頁、2339頁、アメリカン・ソサエティー・フォー・マイクロバイオロジー刊等に記載のファージやトランスポゾンを用いる方法をあげることができる。

本発明に用いられるポリペプチドをコードするDNAを導入して得られる微生物（以下、本発明の微生物と略す）を培地に培養し、培養物中にL-アミノ酸を生成、蓄積させ、該培養物からL-アミノ酸を採取することにより、L-アミノ酸を製造することができる。

【0063】

培養に用いる培地としては、本発明の微生物が資化することのできる炭素源、窒素源、無機塩類等を含有し、該微生物が生育でき、かつ目的とするL-アミノ酸の生産が効率的に行なえる培地であれば天然培地、合成培地のいずれを用いてもよい。

炭素源としては、本発明の微生物が資化し得るものであればよく、グルコース、フラクトース、スクロース、これらを含有する糖蜜、デンプンあるいはデンプン加水分解物等の炭水化物、酢酸、プロピオン酸等の有機酸、メタノール、エタノール、プロパノール等のアルコール類等を用いることができる。

【0064】

窒素源としては、アンモニア、塩化アンモニウム、硫酸アンモニウム、酢酸アンモニウム、リン酸アンモニウム等の無機酸もしくは有機酸のアンモニウム塩、その他の含窒素化合物、ならびにペプトン、肉エキス、酵母エキス、コーンスティーピリカー、カゼイン加水分解物、大豆粕加水分解物、各種醣酵菌体、およびその消化物等を用いることができる。

【0065】

無機塩としては、リン酸二水素カリウム、リン酸水素二カリウム、リン酸マグネシウム、硫酸マグネシウム、塩化ナトリウム、硫酸第一鉄、硫酸マンガン、硫酸銅、炭酸カルシウム等を用いることができる。

培養は、通常、振とう培養または深部通気攪拌培養等の好気的条件下で行なう。培養温度は15℃～50℃がよく、より好ましくは20℃～45℃である。培養時間は通常5時間～7日間、より好ましくは12時間～4日間である。培養中必要に応じてpHを3～9に保持する。pHの調整は、無機または有機の酸、アルカリ溶液、尿素、炭酸カルシウム、アンモニア等を用いて行なう。

【0066】

また培養中必要に応じて、ペニシリンやアンピシリン、テトラサイクリン等の抗生物質を培地に添加してもよい。

プロモーターとして誘導性のプロモーターを用いた組換え体DNAを用いてDNAを導入した微生物を培養するときには、必要に応じてインデューサーを培地に添加してもよい。例えば、lacプロモーターを用いた組換え体DNAを用いてDNAを導入した微生物を培養するときにはイソプロピル-β-D-チオガラクトピラノシド等を、trpプロモーターを用いた組換え体DNAを用いてDNAを導入した微生物を培養するときにはインドールアクリル酸等を培地に添加してもよい。

【0067】

培養終了後の培養液からのアミノ酸の採取は通常のアミノ酸単離法を用いることができる。すなわち、活性炭を用いる方法、イオン交換樹脂を用いる方法、結晶化法、沈殿法等の方法を単独でまたは組み合わせることによって行うことができる。

以下に実施例を示すが、本発明は下記実施例に限定されるものではない。

【実施例1】

【0068】

(1) コリネバクテリウム・グルタミカム LS-22株をLB培地 [10g/L バクトトリプトン (ディフコ社製)、5g/L イーストエキストラクト (ディフコ社製) および5g/L 塩化ナトリウムを含む培地] に植菌し、30°Cで一晩培養した。培養後、Eikmannsらの方法 [Microbiology, 140, 1817 (1994)] に準じて、該微生物の染色体DNAを単離精製した。

配列番号3記載のコリネバクテリウム・グルタミカムATCC13032のndhの塩基配列に基いて配列番号1および2で表される塩基配列を有するDNAを合成した。

【0069】

該DNA(各0.5μmol/L)をプライマーとし、上記染色体DNA(0.1μg)を鑄型として、PfuDNAポリメラーゼ(ストラタジーン社製)2.5単位および各200μmol/LのdNTP(dATP、dTTP、dGTP、dCTP)を含む反応液40μL中でPCRを行なった。

反応終了後、得られた反応液4μLをアガロースゲル電気泳動に供し、公知のコリネバクテリウム・グルタミカムのndhに相当する1.9kbの断片が増幅していることを確認した後、残りの反応液と等量のTE [10mmol/L トリス-塩酸(pH8.0)、1mmol/L エチレンジアミン四酢酸を含有する溶液] 飽和フェノール/クロロフォルム(1vol/1vol)溶液を混合した。該溶液を遠心分離して得られた上層に、2倍量の冷エタノールを加えて混合し、-80°Cで30分間放置した。該溶液を遠心分離してDNAを得、該DNAを20μLのTEに溶解した。

【0070】

該DNA溶解液5μLとpGEM^R-T Easy vector(プロメガ社製)0.06μgをpGEM^R-T Easy vector systemのライゲーションキット(プロメガ社製)を用いて16°Cで16時間反応させ、ndhを含むDNA断片とpGEM^R-T Easy vectorを連結した。

連結反応後の反応液を用いてエシェリヒア・コリDH5 α 株を、エレクトロポレーション法[Nucleic acid Res., 16, 6127-6145 (1988)]によって形質転換した。

【0071】

得られた形質転換体を、100μg/mLのアンピシリンを含むLB寒天培地に塗布し、30°Cで一晩培養した。該寒天培地上に生育したコロニーにより常法により従ってプラスミドを抽出し、制限酵素を用いてその構造を解析することにより、pGEM^R-T Easy vectorにコリネバクテリウム・グルタミカムのndhを含むDNA断片が挿入されたプラスミドであることを確認した。このプラスミドをpT-CGndhと命名した。

【0072】

PT-CGndh 1μgを制限酵素KpnIおよびSalIで切斷し、得られたDNA断片を含む溶液をアガロースゲル電気泳動に供し、約2kbのDNA断片を分離した。

コリネ型細菌用の発現ベクターであるpCS299P(WO 00/63388)0.2μgを制限酵素KpnIおよびSalIで切斷後、得られたDNA断片を含む溶液をアガロースゲル電気泳動に供し、約5.4kbのDNA断片を分離した。

【0073】

上記で得られたndhを含む約2kbのDNA断片とpCS299Pの切斷断片(5.4kb)をライゲーションキット(宝酒造社製)を用いて、16°Cで16時間反応させて連結した。

連結反応後の反応液を用いてコリネバクテリウム・グルタミカムLS-22株を、エレクトロポレーション法[Nucleic acid Res., 16, 6127-6145 (1988)]を用いて形質転換した。

◦

【0074】

得られた形質転換体を25μg/mLのカナマイシンを含むLB寒天培地に塗布し、30°Cで一日間培養した。該寒天培地上に生育したコロニーにより、常法によりプラスミドを抽出し、制限酵素を用いてその構造を解析して、該プラスミドが、pCS299Pにndhを含むDNA断片が挿入されたプラスミドであることを確認した。このプラスミドをpCS-CGndhと命名した。

プラスミドpCS-CGndhを含有するエシェリヒア・コリDH5 α /pCS-CGndhは、FERM BP-0863 3として、平成16年2月19日付で、独立行政法人産業技術総合研究所 特許生物寄

託センター、日本国茨城県つくば市東1丁目1番地1 中央第6（郵便番号305-8566）に寄託されている。

【0075】

(2) コリネバクテリウム・グルタミカムLS-22株およびコリネバクテリウム・グルタミカムLS-22株にpCS-CGndhを導入したコリネバクテリウム・グルタミカムLS-22/pCS-CGndh株をそれぞれ、試験管中のLB培地5mLに植菌し、30℃で一晩振とう培養した。培養液1mLを100mLのMG培地〔10g/L グルコース、3g/L リン酸二水素カリウム、3g/L リン酸水素二カリウム、2g/L 塩化アンモニウム、2g/L 尿素、0.5g/L 硫酸マグネシウム・7水和物、10mg/L 硫酸鉄・10水和物、1mg/L 硫酸マンガン・7水和物、30mg/L ビオチン、1mg/L チアミン塩酸塩、20mg/L システイン塩酸塩、0.5g/L カザミノ酸、および1mL/L メタルミックス(990mg/L 硫酸鉄・7水和物、880mg/L 硫酸亜鉛・7水和物、393mg/L 硫酸銅・5水和物、72mg/L 塩化マンガン・4水和物、88mg/L 四ホウ酸ナトリウム・10水和物および37mg/L パラモリブデン酸アンモニウム・4水和物を含有する溶液)を含有する培地〕の入った500mL容三角フラスコに添加し、30℃で80時間、220rpmで振とう培養した。培養後、培養上清のグルタミン酸濃度をHPLCにて定量した。

【0076】

HPLC分析は、移動相として2.94g/L クエン酸ナトリウム、1.42g/L 硫酸ナトリウム、17mL/L n-プロパノールおよび3g/L ラウリル硫酸ナトリウムを含有するpH 2.4の溶液を行い、40℃でカラムAQ-312(YMC社製)に供した後、反応液(18.5g/L ホウ酸、11g/L NaOH、0.6g/L オルトフタルアルデヒド、2mL/L メルカプトエタノールおよび3mL/L Brige-35を含有する溶液)と混合し、励起波長345nm、吸収波長455nmの蛍光分析に供して行った。

【0077】

その結果、コリネバクテリウム・グルタミカムLS-22株が培養液中に1.5g/Lのグルタミン酸を蓄積していたのに対し、コリネバクテリウム・グルタミカムLS-22/pCS-CGndh株は2.3g/Lのグルタミン酸を蓄積していた。

【実施例2】

【0078】

実施例1と同様に、エレクトロポレーション法を用いてコリネバクテリウム・グルタミカム ATCC14752株にpCS-CGndhを導入し、コリネバクテリウム・グルタミカム ATCC14752/pCS-CGndh株を得た。

コリネバクテリウム・グルタミカム ATCC14752株およびコリネバクテリウム・グルタミカム ATCC14752/pCS-CGndh株を、それぞれGS培地〔70g/L グルコース、10g/L コーンステイーピリカー、10g/L 肉エキス、10g/L 酵母エキス、5g/L 硫酸アンモニウム、0.5g/L リン酸二水素カリウム、1.5g/L リン酸水素二カリウム、0.5g/L 硫酸マグネシウム・7水和物、10mg/L 硫酸鉄・10水和物、10mg/L 硫酸マンガン・7水和物、0.8mg/L 硫酸銅・5水和物、8.3g/L 尿素、5μg/L ビオチン、および1mg/L チアミン塩酸塩を含有し、pH 7.2の培地〕5mLの入った試験管に植菌し、30℃で24時間振とう培養した。この培養液2.5mLを25mLのGP培地〔116g/L グルコース、4g/L フラクトース、50g/L 塩化アンモニウム、10mg/L ニコチン酸、0.7g/L リン酸二水素カリウム、0.7g/L リン酸水素二カリウム、0.5g/L 硫酸マグネシウム・7水和物、20mg/L 硫酸鉄・10水和物、20mg/L 硫酸マンガン・7水和物、0.8mg/L 硫酸銅・5水和物、5g/L 尿素、0.5μg/L ビオチン、1mg/L チアミン塩酸塩および50g/L 炭酸カルシウムを含有し、pH 7.2の培地〕の入った三角フラスコに添加し、30℃で72時間、220rpmで振とう培養した。

【0079】

培養後、培養上清中のグルタミンの蓄積量を実施例1に記載したHPLC条件で定量した。

その結果、コリネバクテリウム・グルタミカムATCC14752株のグルタミン蓄積量は32.2g/Lであるのに対し、コリネバクテリウム・グルタミカムATCC14752/pCS-CGndh株のグルタミン蓄積量は33.3g/Lのグルタミンであった。

【実施例3】

【0080】

実施例1と同様に、エレクトロポレーション法を用いてコリネバクテリウム・グルタミカム FERM BP-1069株にpCS-CGndhを導入し、コリネバクテリウム・グルタミカム FERM BP-1069/pCS-CGndh株を得た。

コリネバクテリウム・グルタミカム FERM BP-1069株およびコリネバクテリウム・グルタミカム FERM BP-1069/pCS-CGndh株を、それぞれ、LS培地 [50g/L シュクロース、30g/L コーンスティーピリカー、20g/L 肉エキス、20g/L カザミノ酸、8g/L 硫酸アンモニウム、2g/L リン酸二水素カリウム、0.5g/L 硫酸マグネシウム・7水和物、3g/L 尿素、20g/L ペプトン、10mg/L 硫酸鉄・10水和物、10mg/L 硫酸亜鉛・7水和物、20mg/L ニコチン酸、10mg/L パントテン酸カルシウム、0.1mg/L ビオチン、1mg/L チアミン塩酸塩および10g/L 炭酸カルシウムを含有し、pH 7.2の培地] 5mLの入った試験管に植菌し、30°Cで24時間振とう培養した。この培養液0.5mLをLP培地 [100g/L 糖蜜（糖分として）、45g/L 硫酸アンモニウム、3g/L 尿素、0.5g/L リン酸二水素カリウム、0.5g/L 硫酸マグネシウム・7水和物、0.3mg/L ビオチンおよび30g/L 炭酸カルシウムを含有し、pH7.0の培地] 5mLの入った試験管に添加し、30°Cで72時間、220rpmで振とう培養した。培養終了後、培養上清のリジン濃度をHPLCにて定量した。HPLC分析は、2.94g/L クエン酸ナトリウム、1.42g/L 硫酸ナトリウム、300mL/L アセトニトリル、および3g/L ラウリル硫酸ナトリウムを含有するpH 6.0の溶液を移動相として、40°CでカラムODS-80TS(TOSOH社製)に供した後、反応液(18.5g/L ホウ酸、11g/L 水酸化ナトリウム、0.6g/L オルトフタルアルデヒド、2ml/L メルカプトエタノールおよび3mL/L Brige-35を含有する溶液)と混合し、励起波長345nm、吸収波長455nmの蛍光分析に供して行った。

【0081】

その結果、コリネバクテリウム・グルタミカム FERM BP-1069株が24.8g/Lのリジンを蓄積していたのに対し、コリネバクテリウム・グルタミカム FERM BP-1069/pCS-CGndh株は28.6g/Lのリジンを蓄積していた。

【配列表フリーテキスト】

【0082】

配列番号1－人工配列の説明：合成DNA

配列番号2－人工配列の説明：合成DNA

【配列表】
SEQUENCE LISTING

<110> KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD

<120> Method for producing L-amino acid

<130> H16-001

<160> 16

<170> PatentIn Ver. 3.1

<210> 1

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic DNA

<400> 1

ctgcttgccc tgcaagggtgca ccagcaaacg

30

<210> 2

<211> 30

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Synthetic DNA

<400> 2

cgagctgcgc gacaaccagg aattcagcgg

30

<210> 3

<211> 1404

<212> DNA

<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032

<220>

<221> CDS

<222>

<400> 3

atg tca gtt aac cca acc cgc ccc gaa ggc ggc cgt cac cac gtc gtc
Met Ser Val Asn Pro Thr Arg Pro Glu Gly Gly Arg His His Val Val

1

5

10

15

48

gtc atc ggt tct ggt ttt ggt ggc ctt ttt gct gcc aag aac ctg gcc 96

Val Ile Gly Ser Gly Phe Gly Gly Leu Phe Ala Ala Lys Asn Leu Ala
 20 25 30

aag gca gac gtc gat gtc act ctg att gac cgc acc aac cac cac ctc 144
 Lys Ala Asp Val Asp Val Thr Leu Ile Asp Arg Thr Asn His His Leu
 35 40 45

ttc cag cca ctg ctg tac caa gtg gca acc ggt atc ctc tcc tcc ggt 192
 Phe Gln Pro Leu Leu Tyr Gln Val Ala Thr Gly Ile Leu Ser Ser Gly
 50 55 60

gaa atc gca cct tcc act cga cag atc ctg ggc tcc cag gaa aac gtc 240
 Glu Ile Ala Pro Ser Thr Arg Gln Ile Leu Gly Ser Gln Glu Asn Val
 65 70 75 80

aac gtc atc aag ggc gaa gtc acc gac atc aac gtc gag tcc cag act 288
 Asn Val Ile Lys Gly Glu Val Thr Asp Ile Asn Val Glu Ser Gln Thr
 85 90 95

gtg acc gcc tcc ctg ggc gag ttc acc cgc gtt ttt gag tac gat tcc 336
 Val Thr Ala Ser Leu Gly Glu Phe Thr Arg Val Phe Glu Tyr Asp Ser
 100 105 110

ttg gtc gtt ggt gct ggc gca ggt cag tcc tac ttc ggc aat gat cac 384
 Leu Val Val Gly Ala Gly Gln Ser Tyr Phe Gly Asn Asp His
 115 120 125

ttc gct gag ttc gca cct ggc atg aag tcc atc gac gat gca ctg gag 432
 Phe Ala Glu Phe Ala Pro Gly Met Lys Ser Ile Asp Asp Ala Leu Glu
 130 135 140

att cgt gca cgc atc atc ggt gct ttc gag cgc gct gag atc tgc gag 480
 Ile Arg Ala Arg Ile Ile Gly Ala Phe Glu Arg Ala Glu Ile Cys Glu
 145 150 155 160

gat cca gct gag cgc gaa cgc ctg ctc acc ttc gtc gtt gtt ggc gct 528
 Asp Pro Ala Glu Arg Glu Arg Leu Leu Thr Phe Val Val Val Gly Ala
 165 170 175

ggc cca acc ggt gtt gag ctt gct ggc cag ttg gct gag atg gct cac 576
 Gly Pro Thr Gly Val Glu Leu Ala Gly Gln Leu Ala Glu Met Ala His
 180 185 190

cgc acc ctt gct ggt gag tac aag aac ttc aac acc aac tcc gca aag 624
 Arg Thr Leu Ala Gly Glu Tyr Lys Asn Phe Asn Thr Asn Ser Ala Lys
 195 200 205

atc atc ctg ctt gat ggt gct cca cag gtt ctt cct cca ttc ggt aag 672
 Ile Ile Leu Leu Asp Gly Ala Pro Gln Val Leu Pro Pro Phe Gly Lys
 210 215 220

cgc cta ggc cgc aac gca cag cgc acc ctg gaa aag atg ggt gtc aac	720
Arg Leu Gly Arg Asn Ala Gln Arg Thr Leu Glu Lys Met Gly Val Asn	
225 230 235 240	
gtt cgc ctg aac gct atg gtc acc aac gtt gac gct acc tcg gtc acc	768
Val Arg Leu Asn Ala Met Val Thr Asn Val Asp Ala Thr Ser Val Thr	
245 250 255	
tac aag acc aag gac ggc gaa gag cac acc atc gaa tct ttc tgc aag	816
Tyr Lys Thr Lys Asp Gly Glu His Thr Ile Glu Ser Phe Cys Lys	
260 265 270	
att tgg tcc gct ggt gtt gcg gca tcc cca ctg ggc aag ctc gtc gca	864
Ile Trp Ser Ala Gly Val Ala Ser Pro Leu Gly Lys Leu Val Ala	
275 280 285	
gag cag acc ggt gtt gag acc gac cgc gca ggc cgc gtc atg gtt aac	912
Glu Gln Thr Gly Val Glu Thr Asp Arg Ala Gly Arg Val Met Val Asn	
290 295 300	
gat gac ctg tct gtt ggc gat cag aag aac gtc ttc gtt gtt ggc gac	960
Asp Asp Leu Ser Val Gly Asp Gln Lys Asn Val Phe Val Val Gly Asp	
305 310 315 320	
atg atg aac tac aac aac ctc cct ggt gtt gct cag gta gca atc cag	1008
Met Met Asn Tyr Asn Asn Leu Pro Gly Val Ala Gln Val Ala Ile Gln	
325 330 335	
agt ggt gag tac gtt gct gag cag atc gaa gct gag gtt gaa ggc cgc	1056
Ser Gly Glu Tyr Val Ala Glu Gln Ile Glu Ala Glu Val Glu Gly Arg	
340 345 350	
tcc aac acc gag cgc gaa gct ttc gat tac ttc gac aag ggc tcc atg	1104
Ser Asn Thr Glu Arg Glu Ala Phe Asp Tyr Phe Asp Lys Gly Ser Met	
355 360 365	
gct acc att tcc cgc ttc tcc gca gtg gtg aag atg ggc aag gtt gag	1152
Ala Thr Ile Ser Arg Phe Ser Ala Val Val Lys Met Gly Lys Val Glu	
370 375 380	
gtc acc ggc ttc atc ggt tgg gtt ctg tgg ttg gct gtt cac atc atg	1200
Val Thr Gly Phe Ile Gly Trp Val Leu Trp Leu Ala Val His Ile Met	
385 390 395 400	
ttc ctg gtt ggc ttc cgc aac cgt ttc gtc tcc gca atc agc tgg ggc	1248
Phe Leu Val Gly Phe Arg Asn Arg Phe Val Ser Ala Ile Ser Trp Gly	
405 410 415	
ctg aac gca ctg tcc cgc aag cgt tgg aac ctg gca acc acc cgc cag	1296

Leu Asn Ala Leu Ser Arg Lys Arg Trp Asn Leu Ala Thr Thr Arg Gln
 420 425 430

cag ctc cac tca cgc acc acg ctg tcc aag ttc gct cac gag ctt gag 1344
 Gln Leu His Ser Arg Thr Thr Leu Ser Lys Phe Ala His Glu Leu Glu
 435 440 445

gaa gca tct tct gat ctt cca atc gag ctg cgc gac aac cag cgt ttc 1392
 Glu Ala Ser Ser Asp Leu Pro Ile Glu Leu Arg Asp Asn Gln Arg Phe
 450 455 460

agc gga aag taa 1404
 Ser Gly Lys
 465

<210> 4
<211> 467
<212> PRT
<213> Corynebacterium glutamicum ATCC13032

<400> 4

Met Ser Val Asn Pro Thr Arg Pro Glu Gly Gly Arg His His Val Val
 1 5 10 15

Val Ile Gly Ser Gly Phe Gly Gly Leu Phe Ala Ala Lys Asn Leu Ala
 20 25 30

Lys Ala Asp Val Asp Val Thr Leu Ile Asp Arg Thr Asn His His Leu
 35 40 45

Phe Gln Pro Leu Leu Tyr Gln Val Ala Thr Gly Ile Leu Ser Ser Gly
 50 55 60

Glu Ile Ala Pro Ser Thr Arg Gln Ile Leu Gly Ser Gln Glu Asn Val
 65 70 75 80

Asn Val Ile Lys Gly Glu Val Thr Asp Ile Asn Val Glu Ser Gln Thr
 85 90 95

Val Thr Ala Ser Leu Gly Glu Phe Thr Arg Val Phe Glu Tyr Asp Ser
 100 105 110

Leu Val Val Gly Ala Gly Ala Gly Gln Ser Tyr Phe Gly Asn Asp His
 115 120 125

Phe Ala Glu Phe Ala Pro Gly Met Lys Ser Ile Asp Asp Ala Leu Glu
 130 135 140

Ile Arg Ala Arg Ile Ile Gly Ala Phe Glu Arg Ala Glu Ile Cys Glu

145	150	155	160
Asp Pro Ala Glu Arg Glu Arg Leu Leu Thr Phe Val Val Val Gly Ala			
165		170	175
Gly Pro Thr Gly Val Glu Leu Ala Gly Gln Leu Ala Glu Met Ala His			
180		185	190
Arg Thr Leu Ala Gly Glu Tyr Lys Asn Phe Asn Thr Asn Ser Ala Lys			
195		200	205
Ile Ile Leu Leu Asp Gly Ala Pro Gln Val Leu Pro Pro Phe Gly Lys			
210	215	220	
Arg Leu Gly Arg Asn Ala Gln Arg Thr Leu Glu Lys Met Gly Val Asn			
225	230	235	240
Val Arg Leu Asn Ala Met Val Thr Asn Val Asp Ala Thr Ser Val Thr			
245		250	255
Tyr Lys Thr Lys Asp Gly Glu Glu His Thr Ile Glu Ser Phe Cys Lys			
260		265	270
Ile Trp Ser Ala Gly Val Ala Ala Ser Pro Leu Gly Lys Leu Val Ala			
275	280	285	
Glu Gln Thr Gly Val Glu Thr Asp Arg Ala Gly Arg Val Met Val Asn			
290	295	300	
Asp Asp Leu Ser Val Gly Asp Gln Lys Asn Val Phe Val Val Gly Asp			
305	310	315	320
Met Met Asn Tyr Asn Asn Leu Pro Gly Val Ala Gln Val Ala Ile Gln			
325		330	335
Ser Gly Glu Tyr Val Ala Glu Gln Ile Glu Ala Glu Val Glu Gly Arg			
340		345	350
Ser Asn Thr Glu Arg Glu Ala Phe Asp Tyr Phe Asp Lys Gly Ser Met			
355		360	365
Ala Thr Ile Ser Arg Phe Ser Ala Val Val Lys Met Gly Lys Val Glu			
370	375	380	
Val Thr Gly Phe Ile Gly Trp Val Leu Trp Leu Ala Val His Ile Met			
385	390	395	400
Phe Leu Val Gly Phe Arg Asn Arg Phe Val Ser Ala Ile Ser Trp Gly			
405		410	415

Leu Asn Ala Leu Ser Arg Lys Arg Trp Asn Leu Ala Thr Thr Arg Gln
 420 425 430

Gln Leu His Ser Arg Thr Thr Leu Ser Lys Phe Ala His Glu Leu Glu
 435 440 445

Glu Ala Ser Ser Asp Leu Pro Ile Glu Leu Arg Asp Asn Gln Arg Phe
 450 455 460

Ser Gly Lys
 465

<210> 5

<211> 1362

<212> DNA

<213> Corynebacterium diphtheriae

<220>

<221> CDS

<222>

<400> 5

atg act aac acc cca ttt cgc cca gaa ggt gga cgc cac cac gtt gta	48
Met Thr Asn Thr Pro Phe Arg Pro Glu Gly Gly Arg His His Val Val	
1 5 10 15	

gtt att ggc tcc ggc ttc ggt gga cta ttc gca gtt caa aac ctc aaa	96
Val Ile Gly Ser Gly Phe Gly Gly Leu Phe Ala Val Gln Asn Leu Lys	
20 25 30	

gat gca gat gtc gat atc acc ctc atc gac cgg aca aac cac cac ctt	144
Asp Ala Asp Val Asp Ile Thr Leu Ile Asp Arg Thr Asn His His Leu	
35 40 45	

ttc cag ccg ttg ctt tac caa gta gca acc ggt atc ttg tcg tct ggt	192
Phe Gln Pro Leu Leu Tyr Gln Val Ala Thr Gly Ile Leu Ser Ser Gly	
50 55 60	

gaa atc gca cca caa acg cgt caa gtt ctt gca cag caa aat aat gtg	240
Glu Ile Ala Pro Gln Thr Arg Gln Val Leu Ala Gln Gln Asn Asn Val	
65 70 75 80	

cac gtt ctt aag gct gaa gtc acc gac att gac acc gaa tcg aag acg	288
His Val Leu Lys Ala Glu Val Thr Asp Ile Asp Thr Glu Ser Lys Thr	
85 90 95	

gtc gtc gca gac ttg gat gat tat tct aaa aca att gaa tac gat tcc	336
Val Val Ala Asp Leu Asp Asp Tyr Ser Lys Thr Ile Glu Tyr Asp Ser	
100 105 110	

ctg atc gtc gcc gct ggt gca ggt cag tct tac ttc gga aat gat cac		384	
Leu Ile Val Ala Ala Gly Ala Gly Gln Ser Tyr Phe Gly Asn Asp His			
115	120	125	
ttc gcg gaa ttc gcg ccg ggt atg aaa aca atc gat gat gca ctc gaa		432	
Phe Ala Glu Phe Ala Pro Gly Met Lys Thr Ile Asp Asp Ala Leu Glu			
130	135	140	
ctg cgt gcg cgc atc atc ggc gct ttc gaa cgc gca gaa atg tgc gaa		480	
Leu Arg Ala Arg Ile Ile Gly Ala Phe Glu Arg Ala Glu Met Cys Glu			
145	150	155	160
gat ccc aaa gaa cgt gaa cgc ctc ttg act ttt gtt atc gtt ggc gca		528	
Asp Pro Lys Glu Arg Glu Arg Leu Leu Thr Phe Val Ile Val Gly Ala			
165	170	175	
gga cca aca ggc gta gaa ctt gca ggt cag ctg gcc gaa atg gca cac		576	
Gly Pro Thr Gly Val Glu Leu Ala Gly Gln Leu Ala Glu Met Ala His			
180	185	190	
cgc acg ttg tct gga gag tac acg cag ttc acg cct tcc aac gcg aag		624	
Arg Thr Leu Ser Gly Glu Tyr Thr Gln Phe Thr Pro Ser Asn Ala Lys			
195	200	205	
atc atc ctg ctt gac ggc gct cct cag gtg ctt cca ccg ttc ggc aag		672	
Ile Ile Leu Leu Asp Gly Ala Pro Gln Val Leu Pro Pro Phe Gly Lys			
210	215	220	
cgt ttg ggt cgt act gca cag cgt gaa tta gaa aag att ggt gta acg		720	
Arg Leu Gly Arg Thr Ala Gln Arg Glu Leu Glu Lys Ile Gly Val Thr			
225	230	235	240
gtc aag ctg aac gct atc gtt acc ggc gta gac gaa aac tca gtg aca		768	
Val Lys Leu Asn Ala Ile Val Thr Gly Val Asp Glu Asn Ser Val Thr			
245	250	255	
tat aag tcc acc gtt gat gat tct ttg cac acg atc gat tcc ttc tgc		816	
Tyr Lys Ser Thr Val Asp Asp Ser Leu His Thr Ile Asp Ser Phe Cys			
260	265	270	
aag atc tgg tcg gca ggc gta gcc gct tcc cca cta ggc aaa cta gtt		864	
Lys Ile Trp Ser Ala Gly Val Ala Ala Ser Pro Leu Gly Lys Leu Val			
275	280	285	
gca gag cag ctt ggt gtc gag gtt gat cgt gca gga cgc gtc cca gtc		912	
Ala Glu Gln Leu Gly Val Glu Val Asp Arg Ala Gly Arg Val Pro Val			
290	295	300	
aac gaa gat ctt tct gtt ggc gac gat aag aac gtc ttt gtt att ggc		960	

Asn Glu Asp Leu Ser Val Gly Asp Asp Lys Asn Val Phe Val Ile Gly			
305	310	315	320
gat atg atg tcg ctc aac agg ctt ccg gga gtc gca cag gta gca atc			1008
Asp Met Met Ser Leu Asn Arg Leu Pro Gly Val Ala Gln Val Ala Ile			
325		330	335
caa ggc ggt gaa tac gtt gct gag cag att gct gct ggg gtc gag gga			1056
Gln Gly Gly Glu Tyr Val Ala Glu Gln Ile Ala Ala Gly Val Glu Gly			
340	345		350
cgt tcc tcg tct gaa cgc cca gcc ttt gaa tac tac gac aag ggt tcg			1104
Arg Ser Ser Ser Glu Arg Pro Ala Phe Glu Tyr Tyr Asp Lys Gly Ser			
355	360		365
atg gct acg gtg tcg cgc ttt aac gcc gtt gtg aag ctt gga aaa gtt			1152
Met Ala Thr Val Ser Arg Phe Asn Ala Val Val Lys Leu Gly Lys Val			
370	375		380
gaa gtt acg gga ttt att ggc tgg gtc atg tgg ctt ctc gtc cac ttg			1200
Glu Val Thr Gly Phe Ile Gly Trp Val Met Trp Leu Leu Val His Leu			
385	390		395
400			
atg ttc ttg gtc ggc ttc cgc aac cga gca act gcg gct ttc tct tgg			1248
Met Phe Leu Val Gly Phe Arg Asn Arg Ala Thr Ala Ala Phe Ser Trp			
405		410	415
ggc atc aat gcg ctt tca cgt aag cgt tgg aac ctc gcc acc act cgt			1296
Gly Ile Asn Ala Leu Ser Arg Lys Arg Trp Asn Leu Ala Thr Thr Arg			
420	425		430
cag cag ctt cac ggc cgt act ggt ttg caa aaa ctt act gcg ctc gtc			1344
Gln Gln Leu His Gly Arg Thr Gly Leu Gln Lys Leu Thr Ala Leu Val			
435	440		445
gat acc gcc gaa aag aag			1362
Asp Thr Ala Glu Lys Lys			
450			

<210> 6

<211> 454

<212> PRT

<213> Corynebacterium diphtheriae

<400> 6

Met Thr Asn Thr Pro Phe Arg Pro Glu Gly Gly Arg His His Val Val			
1	5	10	15

Val Ile Gly Ser Gly Phe Gly Gly Leu Phe Ala Val Gln Asn Leu Lys

20

25

30

Asp Ala Asp Val Asp Ile Thr Leu Ile Asp Arg Thr Asn His His Leu
 35 40 45

Phe Gln Pro Leu Leu Tyr Gln Val Ala Thr Gly Ile Leu Ser Ser Gly
 50 55 60

Glu Ile Ala Pro Gln Thr Arg Gln Val Leu Ala Gln Gln Asn Asn Val
 65 70 75 80

His Val Leu Lys Ala Glu Val Thr Asp Ile Asp Thr Glu Ser Lys Thr
 85 90 95

Val Val Ala Asp Leu Asp Asp Tyr Ser Lys Thr Ile Glu Tyr Asp Ser
 100 105 110

Leu Ile Val Ala Ala Gly Ala Gly Gln Ser Tyr Phe Gly Asn Asp His
 115 120 125

Phe Ala Glu Phe Ala Pro Gly Met Lys Thr Ile Asp Asp Ala Leu Glu
 130 135 140

Leu Arg Ala Arg Ile Ile Gly Ala Phe Glu Arg Ala Glu Met Cys Glu
 145 150 155 160

Asp Pro Lys Glu Arg Glu Arg Leu Leu Thr Phe Val Ile Val Gly Ala
 165 170 175

Gly Pro Thr Gly Val Glu Leu Ala Gly Gln Leu Ala Glu Met Ala His
 180 185 190

Arg Thr Leu Ser Gly Glu Tyr Thr Gln Phe Thr Pro Ser Asn Ala Lys
 195 200 205

Ile Ile Leu Leu Asp Gly Ala Pro Gln Val Leu Pro Pro Phe Gly Lys
 210 215 220

Arg Leu Gly Arg Thr Ala Gln Arg Glu Leu Glu Lys Ile Gly Val Thr
 225 230 235 240

Val Lys Leu Asn Ala Ile Val Thr Gly Val Asp Glu Asn Ser Val Thr
 245 250 255

Tyr Lys Ser Thr Val Asp Asp Ser Leu His Thr Ile Asp Ser Phe Cys
 260 265 270

Lys Ile Trp Ser Ala Gly Val Ala Ala Ser Pro Leu Gly Lys Leu Val
 275 280 285

Ala Glu Gln Leu Gly Val Glu Val Asp Arg Ala Gly Arg Val Pro Val
290 295 300

Asn Glu Asp Leu Ser Val Gly Asp Asp Lys Asn Val Phe Val Ile Gly
305 310 315 320

Asp Met Met Ser Leu Asn Arg Leu Pro Gly Val Ala Gln Val Ala Ile
325 330 335

Gln Gly Gly Glu Tyr Val Ala Glu Gln Ile Ala Ala Gly Val Glu Gly
340 345 350

Arg Ser Ser Ser Glu Arg Pro Ala Phe Glu Tyr Tyr Asp Lys Gly Ser
355 360 365

Met Ala Thr Val Ser Arg Phe Asn Ala Val Val Lys Leu Gly Lys Val
370 375 380

Glu Val Thr Gly Phe Ile Gly Trp Val Met Trp Leu Leu Val His Leu
385 390 395 400

Met Phe Leu Val Gly Phe Arg Asn Arg Ala Thr Ala Ala Phe Ser Trp
405 410 415

Gly Ile Asn Ala Leu Ser Arg Lys Arg Trp Asn Leu Ala Thr Thr Arg
420 425 430

Gln Gln Leu His Gly Arg Thr Gly Leu Gln Lys Leu Thr Ala Leu Val
435 440 445

Asp Thr Ala Glu Lys Lys
450

<210> 7

<211> 1302

<212> DNA

<213> Escherichia coli

<220>

<221> CDS

<222>

<400> 7

ttg act acg cca ttg aaa aag att gtg att gtc ggc ggc ggt gct ggt 48
Met Thr Thr Pro Leu Lys Lys Ile Val Ile Val Gly Gly Ala Gly
1 5 10 15

ggg ctg gaa atg gca aca cag ctg ggg cat aag ctg gga cgc aag aaa 96

Gly	Leu	Glu	Met	Ala	Thr	Gln	Leu	Gly	His	Lys	Leu	Gly	Arg	Lys	Lys	
			20				25				30					
aaa	gcc	aaa	att	acg	ctg	gtc	gat	cgt	aac	cac	agc	cac	ctg	tgg	aaa	144
Lys	Ala	Lys	Ile	Thr	Leu	Val	Asp	Arg	Asn	His	Ser	His	Leu	Trp	Lys	
			35			40				45						
ccg	ctg	ctg	cac	gaa	gtg	gcg	act	ggc	tcg	ctt	gat	gaa	ggc	gtc	gat	192
Pro	Leu	Leu	His	Glu	Val	Ala	Thr	Gly	Ser	Leu	Asp	Glu	Gly	Val	Asp	
			50			55				60						
gcg	ttg	agc	tat	ctg	gcc	cat	gcg	cgc	aat	cat	ggt	ttc	cag	ttc	cag	240
Ala	Leu	Ser	Tyr	Leu	Ala	His	Ala	Arg	Asn	His	Gly	Phe	Gln	Phe	Gln	
			65			70				75			80			
ctg	ggt	tcc	gtc	att	gat	att	gat	cgt	gaa	gcg	aaa	aca	atc	act	att	288
Leu	Gly	Ser	Val	Ile	Asp	Ile	Asp	Arg	Glu	Ala	Lys	Thr	Ile	Thr	Ile	
			85			90				95						
gca	gaa	ctg	cgc	gac	gag	aaa	ggt	gaa	ctg	ctg	gtt	ccg	gaa	cgt	aaa	336
Ala	Glu	Leu	Arg	Asp	Glu	Lys	Gly	Glu	Leu	Leu	Val	Pro	Glu	Arg	Lys	
			100			105				110						
atc	gcc	tat	gac	acc	ctg	gta	atg	gcg	ctg	ggt	agc	acc	tct	aac	gat	384
Ile	Ala	Tyr	Asp	Thr	Leu	Val	Met	Ala	Leu	Gly	Ser	Thr	Ser	Asn	Asp	
			115			120				125						
ttc	aat	acg	cca	ggt	gtc	aaa	gag	aac	tgc	att	ttc	ctc	gat	aac	ccg	432
Phe	Asn	Thr	Pro	Gly	Val	Lys	Glu	Asn	Cys	Ile	Phe	Leu	Asp	Asn	Pro	
			130			135				140						
cac	cag	gcg	cgt	cgc	ttc	cac	cag	gag	atg	ctg	aat	ttg	ttc	ctg	aaa	480
His	Gln	Ala	Arg	Arg	Phe	His	Gln	Glu	Met	Leu	Asn	Leu	Phe	Leu	Lys	
			145			150				155			160			
tac	tcc	gcc	aac	ctg	ggc	gcf	aat	ggc	aaa	gtg	aac	att	gcf	att	gtc	528
Tyr	Ser	Ala	Asn	Leu	Gly	Ala	Asn	Gly	Lys	Val	Asn	Ile	Ala	Ile	Val	
			165			170				175						
ggc	ggc	ggc	gcf	acg	ggt	gta	gaa	ctc	tcc	gct	gaa	ttg	cac	aac	gcf	576
Gly	Gly	Gly	Ala	Thr	Gly	Val	Glu	Leu	Ser	Ala	Glu	Leu	His	Asn	Ala	
			180			185				190						
gtc	aag	caa	ctg	cac	agc	tac	ggt	tac	aaa	ggc	ctg	acc	aac	gaa	gcc	624
Val	Lys	Gln	Leu	His	Ser	Tyr	Gly	Tyr	Lys	Gly	Leu	Thr	Asn	Glu	Ala	
			195			200				205						
ctg	aac	gta	acg	ctg	gta	gaa	gcf	gga	gaa	cgt	att	ttg	cct	gcf	tta	672
Leu	Asn	Val	Thr	Leu	Val	Glu	Ala	Gly	Glu	Arg	Ile	Leu	Pro	Ala	Leu	
			210			215				220						

ccg cca cgt atc tct gct gcg gcc cac aac gag cta acg aaa ctt ggc		720	
Pro Pro Arg Ile Ser Ala Ala Ala His Asn Glu Leu Thr Lys Leu Gly			
225	230	235	240
gtt cgc gtg ctg acg caa acc atg gtc acc agt gct gat gaa ggc ggc		768	
Val Arg Val Leu Thr Gln Thr Met Val Thr Ser Ala Asp Glu Gly Gly			
245	250	255	
ctg cac act aaa gat ggc gaa tat att gag gct gat ctg atg gta tgg		816	
Leu His Thr Lys Asp Gly Glu Tyr Ile Glu Ala Asp Leu Met Val Trp			
260	265	270	
gca gcc ggg atc aaa gcg cca gac ttc ctg aaa gat atc ggt ggt ctt		864	
Ala Ala Gly Ile Lys Ala Pro Asp Phe Leu Lys Asp Ile Gly Gly Leu			
275	280	285	
gaa act aac cgt atc aac cag ctg gtg gaa ccg acg ctg caa acc		912	
Glu Thr Asn Arg Ile Asn Gln Leu Val Val Glu Pro Thr Leu Gln Thr			
290	295	300	
acc cgc gat cca gac att tac gct att ggc gac tgc gcg tca tgc ccg		960	
Thr Arg Asp Pro Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Asp Cys Ala Ser Cys Pro			
305	310	315	320
cgt ccg gaa ggg ggc ttt gtt ccg ccg cgt gct cag gct gca cac cag		1008	
Arg Pro Glu Gly Gly Phe Val Pro Pro Arg Ala Gln Ala Ala His Gln			
325	330	335	
atg gcg act tgc gca atg aac aac att ctg gcg cag atg aac ggt aag		1056	
Met Ala Thr Cys Ala Met Asn Asn Ile Leu Ala Gln Met Asn Gly Lys			
340	345	350	
ccg ctg aaa aat tat cag tat aaa gat cat ggt tcg ctg gta tcg ctg		1104	
Pro Leu Lys Asn Tyr Gln Tyr Lys Asp His Gly Ser Leu Val Ser Leu			
355	360	365	
tcg aac ttc tcc acc gtc ggt agc ctg atg ggt aac ctg acg cgc ggc		1152	
Ser Asn Phe Ser Thr Val Gly Ser Leu Met Gly Asn Leu Thr Arg Gly			
370	375	380	
tca atg atg att gaa gga cga att gcg cgc ttt gta tat atc tcg cta		1200	
Ser Met Met Ile Glu Gly Arg Ile Ala Arg Phe Val Tyr Ile Ser Leu			
385	390	395	400
tac cga atg cat cag att gcg ctg cat ggt tac ttt aaa acc gga tta		1248	
Tyr Arg Met His Gln Ile Ala Leu His Gly Tyr Phe Lys Thr Gly Leu			
405	410	415	
atg atg ctg gtg ggg agt att aac cgc gtt atc cgt ccg cgt ttg aag		1296	

Met Met Leu Val Gly Ser Ile Asn Arg Val Ile Arg Pro Arg Leu Lys
420 425 430

ttg cat 1302
Leu His

<210> 8
<211> 434
<212> PRT
<213> Escherichia coli

<400> 8
Met Thr Thr Pro Leu Lys Lys Ile Val Ile Val Gly Gly Ala Gly
1 5 10 15

Gly Leu Glu Met Ala Thr Gln Leu Gly His Lys Leu Gly Arg Lys Lys
20 25 30

Lys Ala Lys Ile Thr Leu Val Asp Arg Asn His Ser His Leu Trp Lys
35 40 45

Pro Leu Leu His Glu Val Ala Thr Gly Ser Leu Asp Glu Gly Val Asp
50 55 60

Ala Leu Ser Tyr Leu Ala His Ala Arg Asn His Gly Phe Gln Phe Gln
65 70 75 80

Leu Gly Ser Val Ile Asp Ile Asp Arg Glu Ala Lys Thr Ile Thr Ile
85 90 95

Ala Glu Leu Arg Asp Glu Lys Gly Glu Leu Leu Val Pro Glu Arg Lys
100 105 110

Ile Ala Tyr Asp Thr Leu Val Met Ala Leu Gly Ser Thr Ser Asn Asp
115 120 125

Phe Asn Thr Pro Gly Val Lys Glu Asn Cys Ile Phe Leu Asp Asn Pro
130 135 140

His Gln Ala Arg Arg Phe His Gln Glu Met Leu Asn Leu Phe Leu Lys
145 150 155 160

Tyr Ser Ala Asn Leu Gly Ala Asn Gly Lys Val Asn Ile Ala Ile Val
165 170 175

Gly Gly Gly Ala Thr Gly Val Glu Leu Ser Ala Glu Leu His Asn Ala
180 185 190

Val Lys Gln Leu His Ser Tyr Gly Tyr Lys Gly Leu Thr Asn Glu Ala
195 200 205

Leu Asn Val Thr Leu Val Glu Ala Gly Glu Arg Ile Leu Pro Ala Leu
 210 215 220
 Pro Pro Arg Ile Ser Ala Ala Ala His Asn Glu Leu Thr Lys Leu Gly
 225 230 235 240
 Val Arg Val Leu Thr Gln Thr Met Val Thr Ser Ala Asp Glu Gly Gly
 245 250 255
 Leu His Thr Lys Asp Gly Glu Tyr Ile Glu Ala Asp Leu Met Val Trp
 260 265 270
 Ala Ala Gly Ile Lys Ala Pro Asp Phe Leu Lys Asp Ile Gly Gly Leu
 275 280 285
 Glu Thr Asn Arg Ile Asn Gln Leu Val Val Glu Pro Thr Leu Gln Thr
 290 295 300
 Thr Arg Asp Pro Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Asp Cys Ala Ser Cys Pro
 305 310 315 320
 Arg Pro Glu Gly Gly Phe Val Pro Pro Arg Ala Gln Ala Ala His Gln
 325 330 335
 Met Ala Thr Cys Ala Met Asn Asn Ile Leu Ala Gln Met Asn Gly Lys
 340 345 350
 Pro Leu Lys Asn Tyr Gln Tyr Lys Asp His Gly Ser Leu Val Ser Leu
 355 360 365
 Ser Asn Phe Ser Thr Val Gly Ser Leu Met Gly Asn Leu Thr Arg Gly
 370 375 380
 Ser Met Met Ile Glu Gly Arg Ile Ala Arg Phe Val Tyr Ile Ser Leu
 385 390 395 400
 Tyr Arg Met His Gln Ile Ala Leu His Gly Tyr Phe Lys Thr Gly Leu
 405 410 415
 Met Met Leu Val Gly Ser Ile Asn Arg Val Ile Arg Pro Arg Leu Lys
 420 425 430
 Leu His

<210> 9

<211> 1296

<212> DNA

<213> Pseudomonas fluorescens

<220>

<221> CDS

<222>

<400> 9

atg act cat cgt att gtc atc gtt ggc ggc ggc gcc ggc ggt ctg gag 48
 Met Thr His Arg Ile Val Ile Val Gly Gly Gly Ala Gly Gly Leu Glu
 1 5 10 15

ttg gct acc cgt ctg ggt aag act ctg ggc aag cgt ggc acg gcc agt 96
 Leu Ala Thr Arg Leu Gly Lys Thr Leu Gly Lys Arg Gly Thr Ala Ser
 20 25 30

gtg atg ctg gtc gac gcg aac ctg acc cac atc tgg aaa ccg cta ctg 144
 Val Met Leu Val Asp Ala Asn Leu Thr His Ile Trp Lys Pro Leu Leu
 35 40 45

cac gaa gtg gcc ggc tcc ttg aac tcc tcc gaa gac gaa ctc aac 192
 His Glu Val Ala Ala Gly Ser Leu Asn Ser Ser Glu Asp Glu Leu Asn
 50 55 60

tat gtc gcc cag gca aaa tgg aac cac ttc gag ttc cag ctc ggg cgc 240
 Tyr Val Ala Gln Ala Lys Trp Asn His Phe Glu Phe Gln Leu Gly Arg
 65 70 75 80

atg agc ggc ctg gat cgc gag cgc aag aga atc caa ctg gcc gcc acc 288
 Met Ser Gly Leu Asp Arg Glu Arg Lys Arg Ile Gln Leu Ala Ala Thr
 85 90 95

tat gac gag acc ggc gtc gag ctg ttg ccg gcc cg gaa ctg ggc tac 336
 Tyr Asp Glu Thr Gly Val Glu Leu Leu Pro Ala Arg Glu Leu Gly Tyr
 100 105 110

gac acc ctg gtg att gcc gtc ggc agc acc acc aat gac ttc ggc acc 384
 Asp Thr Leu Val Ile Ala Val Gly Ser Thr Thr Asn Asp Phe Gly Thr
 115 120 125

gaa ggc gcg gcg cag cac tgc ctg ttc ctc gac acc cgc aaa cag gcc 432
 Glu Gly Ala Ala Gln His Cys Leu Phe Leu Asp Thr Arg Lys Gln Ala
 130 135 140

gag cgc ttc cat cag caa ttg ctg cac cac tat ctg cgc gcc cac gcc 480
 Glu Arg Phe His Gln Gln Leu Leu His His Tyr Leu Arg Ala His Ala
 145 150 155 160

ggg cag acc gat atc gtc gag cgc atc agc gtc gcc att gtc ggc gcc 528
 Gly Gln Thr Asp Ile Val Glu Arg Ile Ser Val Ala Ile Val Gly Ala
 165 170 175

ggt gcg acc ggg gtc gaa ctg gcc gag ctg cat aat gcc gcc cac Gly Ala Thr Gly Val Glu Leu Ala Ala Glu Leu His Asn Ala Ala His 180 185 190	576
gaa ctg cac gcc tac ggc ctg gac cg ^g atc aaa ccg gag aac atg cac Glu Leu His Ala Tyr Gly Leu Asp Arg Ile Lys Pro Glu Asn Met His 195 200 205	624
atc acc ctg atc gag gcc ggg cca cgc gtc ttg ccg gcc ctg ccg gag Ile Thr Leu Ile Glu Ala Gly Pro Arg Val Leu Pro Ala Leu Pro Glu 210 215 220	672
cgt atc ggc ggg ccg gtg cac aag acc ctg gaa aaa ctc ggg gtc aac Arg Ile Gly Gly Pro Val His Lys Thr Leu Glu Lys Leu Gly Val Asn 225 230 235 240	720
gtc atg acc aac gcc gcc gtc agc cag gtg acc gcc gac agc ctg att Val Met Thr Asn Ala Ala Val Ser Gln Val Thr Ala Asp Ser Leu Ile 245 250 255	768
acc gcg gac ggc aaa gtg atc gac gcg agc ctg aaa gtc tgg gcc gcc Thr Ala Asp Gly Lys Val Ile Asp Ala Ser Leu Lys Val Trp Ala Ala 260 265 270	816
ggg att cgc gcc ccg gac ttc ctc aag gac atc gac ggg ctg gag acc Gly Ile Arg Ala Pro Asp Phe Leu Lys Asp Ile Asp Gly Leu Glu Thr 275 280 285	864
aac cgg atc aac cag ttg cac gtg ctg ccc act ttg cag acc acc cgc Asn Arg Ile Asn Gln Leu His Val Leu Pro Thr Leu Gln Thr Thr Arg 290 295 300	912
gac gag aac atc ttc gcc ttc ggc gac tgc gcc gcc tgc ccg caa ccc Asp Glu Asn Ile Phe Ala Phe Gly Asp Cys Ala Ala Cys Pro Gln Pro 305 310 315 320	960
ggc agc gag cgc aac gtc cca cct cgc gcc cag gcc gca cac cag caa Gly Ser Glu Arg Asn Val Pro Pro Arg Ala Gln Ala Ala His Gln Gln 325 330 335	1008
gcc tca ctg ctg gcc aaa tcc ttg aag ctg cgg atc gag ggc aag gcc Ala Ser Leu Leu Ala Lys Ser Leu Lys Leu Arg Ile Glu Gly Lys Ala 340 345 350	1056
ctg ccg gaa tac aaa tac acc gac tac ggc tcg ctg atc tcg ctg tcg Leu Pro Glu Tyr Lys Tyr Thr Asp Tyr Gly Ser Leu Ile Ser Leu Ser 355 360 365	1104
cg ^g ttc tcg gca gtg ggc aac ctg atg ggt aac ctg acc ggc agc gtg 1152	

Arg Phe Ser Ala Val Gly Asn Leu Met Gly Asn Leu Thr Gly Ser Val
 370 375 380

atg ctc gaa ggc tgg ctg gcg cgg atg ttc tat gtg tcg ctg tac cgc 1200
 Met Leu Glu Gly Trp Leu Ala Arg Met Phe Tyr Val Ser Leu Tyr Arg
 385 390 395 400

atg cac cag atg gcg ctg tac ggc atg ttc cgc acg gcc atg ttg atg 1248
 Met His Gln Met Ala Leu Tyr Gly Met Phe Arg Thr Ala Met Leu Met
 405 410 415

ctg ggt agc aag atc ggg cgt ggg acc gag cct cgg ctg aag ctg cac 1296
 Leu Gly Ser Lys Ile Gly Arg Gly Thr Glu Pro Arg Leu Lys Leu His
 420 425 430

<210> 10

<211> 432

<212> PRT

<213> Pseudomonas fluorescens

<400> 10

Met	Thr	His	Arg	Ile	Val	Ile	Val	Gly	Gly	Gly	Ala	Gly	Gly	Leu	Glu
1				5				10			15				

Leu	Ala	Thr	Arg	Leu	Gly	Lys	Thr	Leu	Gly	Lys	Arg	Gly	Thr	Ala	Ser
				20			25			30					

Val	Met	Leu	Val	Asp	Ala	Asn	Leu	Thr	His	Ile	Trp	Lys	Pro	Leu	Leu
				35			40			45					

His	Glu	Val	Ala	Ala	Gly	Ser	Leu	Asn	Ser	Ser	Glu	Asp	Glu	Leu	Asn
					50		55			60					

Tyr	Val	Ala	Gln	Ala	Lys	Trp	Asn	His	Phe	Glu	Phe	Gln	Leu	Gly	Arg
65					70			75			80				

Met	Ser	Gly	Leu	Asp	Arg	Glu	Arg	Lys	Arg	Ile	Gln	Leu	Ala	Ala	Thr
				85				90			95				

Tyr	Asp	Glu	Thr	Gly	Val	Glu	Leu	Leu	Pro	Ala	Arg	Glu	Leu	Gly	Tyr
					100		105			110					

Asp	Thr	Leu	Val	Ile	Ala	Val	Gly	Ser	Thr	Thr	Asn	Asp	Phe	Gly	Thr
				115			120			125					

Glu	Gly	Ala	Ala	Gln	His	Cys	Leu	Phe	Leu	Asp	Thr	Arg	Lys	Gln	Ala
					130		135			140					

Glu	Arg	Phe	His	Gln	Gln	Leu	Leu	His	His	Tyr	Leu	Arg	Ala	His	Ala
145						150			155			160			

Gly Gln Thr Asp Ile Val Glu Arg Ile Ser Val Ala Ile Val Gly Ala
165 170 175

Gly Ala Thr Gly Val Glu Leu Ala Ala Glu Leu His Asn Ala Ala His
180 185 190

Glu Leu His Ala Tyr Gly Leu Asp Arg Ile Lys Pro Glu Asn Met His
195 200 205

Ile Thr Leu Ile Glu Ala Gly Pro Arg Val Leu Pro Ala Leu Pro Glu
210 215 220

Arg Ile Gly Gly Pro Val His Lys Thr Leu Glu Lys Leu Gly Val Asn
225 230 235 240

Val Met Thr Asn Ala Ala Val Ser Gln Val Thr Ala Asp Ser Leu Ile
245 250 255

Thr Ala Asp Gly Lys Val Ile Asp Ala Ser Leu Lys Val Trp Ala Ala
260 265 270

Gly Ile Arg Ala Pro Asp Phe Leu Lys Asp Ile Asp Gly Leu Glu Thr
275 280 285

Asn Arg Ile Asn Gln Leu His Val Leu Pro Thr Leu Gln Thr Thr Arg
290 295 300

Asp Glu Asn Ile Phe Ala Phe Gly Asp Cys Ala Ala Cys Pro Gln Pro
305 310 315 320

Gly Ser Glu Arg Asn Val Pro Pro Arg Ala Gln Ala Ala His Gln Gln
325 330 335

Ala Ser Leu Leu Ala Lys Ser Leu Lys Leu Arg Ile Glu Gly Lys Ala
340 345 350

Leu Pro Glu Tyr Lys Tyr Thr Asp Tyr Gly Ser Leu Ile Ser Leu Ser
355 360 365

Arg Phe Ser Ala Val Gly Asn Leu Met Gly Asn Leu Thr Gly Ser Val
370 375 380

Met Leu Glu Gly Trp Leu Ala Arg Met Phe Tyr Val Ser Leu Tyr Arg
385 390 395 400

Met His Gln Met Ala Leu Tyr Gly Met Phe Arg Thr Ala Met Leu Met
405 410 415

Leu Gly Ser Lys Ile Gly Arg Gly Thr Glu Pro Arg Leu Lys Leu His

420

425

430

<210> 11
<211> 1296
<212> DNA
<213> Azotobacter vinelandii

<220>
<221> CDS
<222>

ctc gct acc cgc ctc ggc aag acc atg ggc agg aac ttc cag gcg aag 96
 Leu Ala Thr Arg Leu Gly Lys Thr Met Gly Arg Asn Phe Gln Ala Lys
 20 25 30

atc acc ctg gtc gac gcc aac atg acc cac ctg tgg aaa ccg ctg ctg 144
 Ile Thr Leu Val Asp Ala Asn Met Thr His Leu Trp Lys Pro Leu Leu
 35 40 45

cac gaa gtc gcc gcc ggc tcg ctg aac tcg acc ggc gac gaa ctg aac 192
 His Glu Val Ala Ala Gly Ser Leu Asn Ser Thr Gly Asp Glu Leu Asn
 50 55 60

tat gtg gcc cag gcc aaa tgg aac aac ttc gag ttc cag tac ggc cgcc
Tyr Val Ala Gln Ala Lys Trp Asn Asn Phe Glu Phe Gln Tyr Gly Arg-
65 70 75 80

atg tgc ggt ctg gac cgg gcc aac aag cgt atc cgc ctg gcg gcc cag 288
 Met Cys Gly Leu Asp Arg Ala Asn Lys Arg Ile Arg Leu Ala Ala Gln
 85 90 95

ccg gcc cag gaa gat cgc gcg ccc ctg ccc gag cgc gaa ctg gaa tac 336
Pro Ala Gln Glu Asp Arg Ala Pro Leu Pro Glu Arg Glu Leu Glu Tyr
100 105 110

gac acc ctg gtc ctt tcc gtc ggc agc acc acc aat gac ttc ggc acc 384
Asp Thr Leu Val Leu Ser Val Gly Ser Thr Thr Asn Asp Phe Gly Thr
115 120 125

ccg ggc gcc gcc gag aac tgt att ttc ctg gaa ggc cgc gac cag gcc 432
 Pro Gly Ala Ala Glu Asn Cys Ile Phe Leu Glu Gly Arg Asp Gln Ala
 130 135 140

gag cgt ttc cgc cgt ccg ctg ctc agc cac tac ttg cgt gcc cac gcc 480
Glu Arg Phe Arg Arg Pro Leu Leu Ser His Tyr Leu Arg Ala His Ala

145	150	155	160	
agc aat gac gac ggc cat cag gtc aag gtc gcc atc gtc ggc gcc ggt Ser Asn Asp Asp Gly His Gln Val Lys Val Ala Ile Val Gly Ala Gly				528
165		170		175
gcc acc ggg gtc gaa ctg gcc gca gaa ctg cgc cac gcc tcc aag gaa Ala Thr Gly Val Glu Leu Ala Ala Glu Leu Arg His Ala Ser Lys Glu				576
180		185		190
ctg gtc gcc tat ggg ctg gag cgc att ccg ccg gag aac ctc agc atc Leu Val Ala Tyr Gly Leu Glu Arg Ile Pro Pro Glu Asn Leu Ser Ile				624
195		200		205
acg ctg atc gaa tcc agc ccg cgt gta ctc gcc ctg ccc gaa cgc Thr Leu Ile Glu Ser Ser Pro Arg Val Leu Ala Ala Leu Pro Glu Arg				672
210		215		220
atc agc cgc tcc gcg cac gcc acc ctg gaa agc ctg ggc gtt cgc gtg Ile Ser Arg Ser Ala His Ala Thr Leu Glu Ser Leu Gly Val Arg Val				720
225		230		235
240				
ctc gtc agc acc gcc gtc agc gag gtc acc gcg gaa ggc gtg aag acg Leu Val Ser Thr Ala Val Ser Glu Val Thr Ala Glu Gly Val Lys Thr				768
245		250		255
aag gac gac cag ttc atc ccc gcc gac ctc atg gtc tgg gcc gca ggc Lys Asp Asp Gln Phe Ile Pro Ala Asp Leu Met Val Trp Ala Ala Gly				816
260		265		270
gtc cgc gcg ccc gcc ttc ctc aag gag ctg gat ggt ctg gaa acc aat Val Arg Ala Pro Ala Phe Leu Lys Glu Leu Asp Gly Leu Glu Thr Asn				864
275		280		285
cgc atc aac cag ttg cag gtc cgc cag acc ctg cag act act ctg gac Arg Ile Asn Gln Leu Gln Val Arg Gln Thr Leu Gln Thr Thr Leu Asp				912
290		295		300
gac gat atc ttc gcc ttc ggc gat tgt gcc tcc tgc ccg cag ccg ggt Asp Asp Ile Phe Ala Phe Gly Asp Cys Ala Ser Cys Pro Gln Pro Gly				960
305		310		315
				320
acc gac cgc ccc gtt ccg ccg cgc gcc cag gcc gct cac cag cag gcc Thr Asp Arg Pro Val Pro Pro Arg Ala Gln Ala Ala His Gln Gln Ala				1008
325		330		335
agc ctg ctg gcc aag tcg ctc cac cgc aag ctg cag gaa gac agc ctc Ser Leu Leu Ala Lys Ser Leu His Arg Lys Leu Gln Glu Asp Ser Leu				1056
340		345		350

tgc tgg agt atc gct aca gcg aac cac ggc tcg ctg atc tcc ctc tcg 1104
 Cys Trp Ser Ile Ala Thr Ala Asn His Gly Ser Leu Ile Ser Leu Ser
 355 360 365

agc ttc tcg gcg atc ggt aac ctg atg ggc aac ctg acc ggc aac gtg 1152
 Ser Phe Ser Ala Ile Gly Asn Leu Met Gly Asn Leu Thr Gly Asn Val
 370 375 380

acc ttg gaa ggc tgg ctg gcc cgcc aag ttc tac att tcc ctg tac cgc 1200
 Thr Leu Glu Gly Trp Leu Ala Arg Lys Phe Tyr Ile Ser Leu Tyr Arg
 385 390 395 400

atg cac cag atg gcg ctc tac ggt acc ttc cgc acc ctg atg atg atg 1248
 Met His Gln Met Ala Leu Tyr Gly Thr Phe Arg Thr Leu Met Met Met
 405 410 415

ctg ggc gac cgc ttc cgc agc agc acc gaa ccc cgc ctc aag ctt cac 1296
 Leu Gly Asp Arg Phe Arg Ser Ser Thr Glu Pro Arg Leu Lys Leu His
 420 425 430

<210> 12

<211> 432

<212> PRT

<213> Azotobacter vinelandii

<400> 12

Met Thr His Arg Ile Val Ile Val Gly Gly Gly Ala Gly Gly Val Glu
 1 5 10 15

Leu Ala Thr Arg Leu Gly Lys Thr Met Gly Arg Asn Phe Gln Ala Lys
 20 25 30

Ile Thr Leu Val Asp Ala Asn Met Thr His Leu Trp Lys Pro Leu Leu
 35 40 45

His Glu Val Ala Ala Gly Ser Leu Asn Ser Thr Gly Asp Glu Leu Asn
 50 55 60

Tyr Val Ala Gln Ala Lys Trp Asn Asn Phe Glu Phe Gln Tyr Gly Arg
 65 70 75 80

Met Cys Gly Leu Asp Arg Ala Asn Lys Arg Ile Arg Leu Ala Ala Gln
 85 90 95

Pro Ala Gln Glu Asp Arg Ala Pro Leu Pro Glu Arg Glu Leu Glu Tyr
 100 105 110

Asp Thr Leu Val Leu Ser Val Gly Ser Thr Thr Asn Asp Phe Gly Thr
 115 120 125

Pro Gly Ala Ala Glu Asn Cys Ile Phe Leu Glu Gly Arg Asp Gln Ala
 130 135 140
 Glu Arg Phe Arg Arg Pro Leu Leu Ser His Tyr Leu Arg Ala His Ala
 145 150 155 160
 Ser Asn Asp Asp Gly His Gln Val Lys Val Ala Ile Val Gly Ala Gly
 165 170 175
 Ala Thr Gly Val Glu Leu Ala Ala Glu Leu Arg His Ala Ser Lys Glu
 180 185 190
 Leu Val Ala Tyr Gly Leu Glu Arg Ile Pro Pro Glu Asn Leu Ser Ile
 195 200 205
 Thr Leu Ile Glu Ser Ser Pro Arg Val Leu Ala Ala Leu Pro Glu Arg
 210 215 220
 Ile Ser Arg Ser Ala His Ala Thr Leu Glu Ser Leu Gly Val Arg Val
 225 230 235 240
 Leu Val Ser Thr Ala Val Ser Glu Val Thr Ala Glu Gly Val Lys Thr
 245 250 255
 Lys Asp Asp Gln Phe Ile Pro Ala Asp Leu Met Val Trp Ala Ala Gly
 260 265 270
 Val Arg Ala Pro Ala Phe Leu Lys Glu Leu Asp Gly Leu Glu Thr Asn
 275 280 285
 Arg Ile Asn Gln Leu Gln Val Arg Gln Thr Leu Gln Thr Thr Leu Asp
 290 295 300
 Asp Asp Ile Phe Ala Phe Gly Asp Cys Ala Ser Cys Pro Gln Pro Gly
 305 310 315 320
 Thr Asp Arg Pro Val Pro Pro Arg Ala Gln Ala Ala His Gln Gln Ala
 325 330 335
 Ser Leu Leu Ala Lys Ser Leu His Arg Lys Leu Gln Glu Asp Ser Leu
 340 345 350
 Cys Trp Ser Ile Ala Thr Ala Asn His Gly Ser Leu Ile Ser Leu Ser
 355 360 365
 Ser Phe Ser Ala Ile Gly Asn Leu Met Gly Asn Leu Thr Gly Asn Val
 370 375 380
 Thr Leu Glu Gly Trp Leu Ala Arg Lys Phe Tyr Ile Ser Leu Tyr Arg

385	390	395	400
-----	-----	-----	-----

Met His Gln Met Ala Leu Tyr Gly Thr Phe Arg Thr Leu Met Met Met			
405	410	415	

Leu Gly Asp Arg Phe Arg Ser Ser Thr Glu Pro Arg Leu Lys Leu His			
420	425	430	

<210> 13

<211> 1302

<212> DNA

<213> Salmonella typhimurium LT2

<220>

<221> CDS

<222>

<400> 13

ttg act aca cca tta aaa aag atc gtg att gtc ggc ggc ggc gct ggc		48
Met Thr Thr Pro Leu Lys Lys Ile Val Ile Val Gly Gly Gly Ala Gly		
1	5	10
		15

ggg ctg gaa atg gcg acg cag tta ggc cat aaa ctg ggg cgc aag aaa		96
Gly Leu Glu Met Ala Thr Gln Leu Gly His Lys Leu Gly Arg Lys Lys		
20	25	30

aaa gcg aaa atc acg ctg gta gac aga aat cac agc cat ctg tgg aaa		144
Lys Ala Lys Ile Thr Leu Val Asp Arg Asn His Ser His Leu Trp Lys		
35	40	45

cca ttg ctg cac gaa gtg gcg act ggc tct ctg gac gaa ggc gtg gat		192
Pro Leu Leu His Glu Val Ala Thr Gly Ser Leu Asp Glu Gly Val Asp		
50	55	60

gcg ctg agc tat ctg gct cat gcg cgt aat cat ggt ttc cag ttc cag		240
Ala Leu Ser Tyr Leu Ala His Ala Arg Asn His Gly Phe Gln Phe Gln		
65	70	75
		80

ctg ggg tcg gtg atg gat atc gat cgc gaa gcg aaa acc atc acc att		288
Leu Gly Ser Val Met Asp Ile Asp Arg Glu Ala Lys Thr Ile Thr Ile		
85	90	95

gcc gag ttg cgt gat gaa aag ggc gaa ctg ctg gtg ccg gag cgc aaa		336
Ala Glu Leu Arg Asp Glu Lys Gly Glu Leu Leu Val Pro Glu Arg Lys		
100	105	110

atc gcg tat gac acg ctg gtg atg gcg ctg ggc agc acc tct aat gat		384
Ile Ala Tyr Asp Thr Leu Val Met Ala Leu Gly Ser Thr Ser Asn Asp		

115	120	125	
ttc aac acg ccg ggc gtg aaa gag cac tgt atc ttc ctc gat aac ccg Phe Asn Thr Pro Gly Val Lys Glu His Cys Ile Phe Leu Asp Asn Pro			432
130	135	140	
cat cag gcg cgc cgt ttt cac cag gag atg ctg aac ctg ttc ctc aag His Gln Ala Arg Arg Phe His Gln Glu Met Leu Asn Leu Phe Leu Lys			480
145	150	155	160
tat tcg gct aat ctg ggc gcg aac ggt aag gtc aat atc gcc atc gtt Tyr Ser Ala Asn Leu Gly Ala Asn Gly Lys Val Asn Ile Ala Ile Val			528
165	170	175	
ggc ggc ggt gcg acg ggg gtt gag ctg tcg gct gaa ctg cat aat gcg Gly Gly Gly Ala Thr Gly Val Glu Leu Ser Ala Glu Leu His Asn Ala			576
180	185	190	
gta aaa cag ctg cat agc tat ggt tat aag ggg ctg acc aac gac gcg Val Lys Gln Leu His Ser Tyr Gly Tyr Lys Gly Leu Thr Asn Asp Ala			624
195	200	205	
ctg aac gtg acg ttg gtt gag gct ggc gag cgt att ctg cct gcg ttg Leu Asn Val Thr Leu Val Glu Ala Gly Glu Arg Ile Leu Pro Ala Leu			672
210	215	220	
ccg ccg cgt atc tcc agc gcc gcg cat aat gaa ctg acc aaa ctg ggc Pro Pro Arg Ile Ser Ser Ala Ala His Asn Glu Leu Thr Lys Leu Gly			720
225	230	235	240
gtt cgc gtg ctg acg caa act atg gtc acc agc gcc gac gaa ggc ggt Val Arg Val Leu Thr Gln Thr Met Val Thr Ser Ala Asp Glu Gly Gly			768
245	250	255	
ctg cat acg aaa gaa ggt gaa tat att cag gcc gat ctg atg gtg tgg Leu His Thr Lys Glu Gly Glu Tyr Ile Gln Ala Asp Leu Met Val Trp			816
260	265	270	
gcg gcg ggt atc aaa gcg cca gat ttt atg aaa gag att ggt ggt ctg Ala Ala Gly Ile Lys Ala Pro Asp Phe Met Lys Glu Ile Gly Gly Leu			864
275	280	285	
gaa acg aac cgc att aac caa ctg gtg gtg gaa ccg acg ctg caa acc Glu Thr Asn Arg Ile Asn Gln Leu Val Val Glu Pro Thr Leu Gln Thr			912
290	295	300	
acg cgc gat cct gat att tat gcg att ggc gac tgc gct tcc tgc gca Thr Arg Asp Pro Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Asp Cys Ala Ser Cys Ala			960
305	310	315	320

cgt ccg gag gga ggt ttt gtg ccg cct cgc gct cag gcg gcg cat cag		1008	
Arg Pro Glu Gly Gly Phe Val Pro Pro Arg Ala Gln Ala Ala His Gln			
325	330	335	
atg gct acc tgc gcg atg aaa aac att ctg gcg cag atg aat ggc aaa		1056	
Met Ala Thr Cys Ala Met Lys Asn Ile Leu Ala Gln Met Asn Gly Lys			
340	345	350	
ccg ctg aaa gct tac cag tat aaa gat cat gga tcg ctg gtc tct ctg		1104	
Pro Leu Lys Ala Tyr Gln Tyr Lys Asp His Gly Ser Leu Val Ser Leu			
355	360	365	
tcc aac ttc tct acc gtg ggt agt ctg atg ggg aac ctg acc cgc ggt		1152	
Ser Asn Phe Ser Thr Val Gly Ser Leu Met Gly Asn Leu Thr Arg Gly			
370	375	380	
tca atg atg att gaa gga cgt atc gcc cgc ttc gtg tat atc tcg cta		1200	
Ser Met Met Ile Glu Gly Arg Ile Ala Arg Phe Val Tyr Ile Ser Leu			
385	390	400	
tac cgt atg cac cag ata gcg ctg cat gga tac ttt aaa acc ggc ctg		1248	
Tyr Arg Met His Gln Ile Ala Leu His Gly Tyr Phe Lys Thr Gly Leu			
405	410	415	
atg atg ctg gtg ggc agt att aac cgc gtc att cgt ccg cgc ctg aaa		1296	
Met Met Leu Val Gly Ser Ile Asn Arg Val Ile Arg Pro Arg Leu Lys			
420	425	430	
ctg cat		1302	
Leu His			
<210> 14			
<211> 434			
<212> PRT			
<213> Salmonella typhimurium LT2			
<400> 14			
Met Thr Thr Pro Leu Lys Lys Ile Val Ile Val Gly Gly Ala Gly			
1	5	10	15
Gly Leu Glu Met Ala Thr Gln Leu Gly His Lys Leu Gly Arg Lys Lys			
20	25	30	
Lys Ala Lys Ile Thr Leu Val Asp Arg Asn His Ser His Leu Trp Lys			
35	40	45	
Pro Leu Leu His Glu Val Ala Thr Gly Ser Leu Asp Glu Gly Val Asp			
50	55	60	

Ala Leu Ser Tyr Leu Ala His Ala Arg Asn His Gly Phe Gln Phe Gln
 65 70 75 80
 Leu Gly Ser Val Met Asp Ile Asp Arg Glu Ala Lys Thr Ile Thr Ile
 85 90 95
 Ala Glu Leu Arg Asp Glu Lys Gly Glu Leu Leu Val Pro Glu Arg Lys
 100 105 110
 Ile Ala Tyr Asp Thr Leu Val Met Ala Leu Gly Ser Thr Ser Asn Asp
 115 120 125
 Phe Asn Thr Pro Gly Val Lys Glu His Cys Ile Phe Leu Asp Asn Pro
 130 135 140
 His Gln Ala Arg Arg Phe His Gln Glu Met Leu Asn Leu Phe Leu Lys
 145 150 155 160
 Tyr Ser Ala Asn Leu Gly Ala Asn Gly Lys Val Asn Ile Ala Ile Val
 165 170 175
 Gly Gly Gly Ala Thr Gly Val Glu Leu Ser Ala Glu Leu His Asn Ala
 180 185 190
 Val Lys Gln Leu His Ser Tyr Gly Tyr Lys Gly Leu Thr Asn Asp Ala
 195 200 205
 Leu Asn Val Thr Leu Val Glu Ala Gly Glu Arg Ile Leu Pro Ala Leu
 210 215 220
 Pro Pro Arg Ile Ser Ser Ala Ala His Asn Glu Leu Thr Lys Leu Gly
 225 230 235 240
 Val Arg Val Leu Thr Gln Thr Met Val Thr Ser Ala Asp Glu Gly Gly
 245 250 255
 Leu His Thr Lys Glu Gly Glu Tyr Ile Gln Ala Asp Leu Met Val Trp
 260 265 270
 Ala Ala Gly Ile Lys Ala Pro Asp Phe Met Lys Glu Ile Gly Gly Leu
 275 280 285
 Glu Thr Asn Arg Ile Asn Gln Leu Val Val Glu Pro Thr Leu Gln Thr
 290 295 300
 Thr Arg Asp Pro Asp Ile Tyr Ala Ile Gly Asp Cys Ala Ser Cys Ala
 305 310 315 320
 Arg Pro Glu Gly Gly Phe Val Pro Pro Arg Ala Gln Ala Ala His Gln
 325 330 335

Met Ala Thr Cys Ala Met Lys Asn Ile Leu Ala Gln Met Asn Gly Lys
 340 345 350

Pro Leu Lys Ala Tyr Gln Tyr Lys Asp His Gly Ser Leu Val Ser Leu
 355 360 365

Ser Asn Phe Ser Thr Val Gly Ser Leu Met Gly Asn Leu Thr Arg Gly
 370 375 380

Ser Met Met Ile Glu Gly Arg Ile Ala Arg Phe Val Tyr Ile Ser Leu
 385 390 395 400

Tyr Arg Met His Gln Ile Ala Leu His Gly Tyr Phe Lys Thr Gly Leu
 405 410 415

Met Met Leu Val Gly Ser Ile Asn Arg Val Ile Arg Pro Arg Leu Lys
 420 425 430

Leu His

<210> 15

<211> 1908

<212> DNA

<213> Lactobacillus plantarum WCFS1

<220>

<221> CDS

<222>

<400> 15

atg gca aag aaa aat att gtc gtt gtc ggt gcg ggg ttt gct ggt gtt 48
 Met Ala Lys Lys Asn Ile Val Val Val Gly Ala Gly Phe Ala Gly Val
 1 5 10 15

tac gca acc aag aaa ctg tct aag cat ttc aaa aaa aat gca gac gtc 96
 Tyr Ala Thr Lys Lys Leu Ser Lys His Phe Lys Lys Asn Ala Asp Val
 20 25 30

gag att acg ttg att gac cgg cat tca tac ttc acg tat atg act gaa 144
 Glu Ile Thr Leu Ile Asp Arg His Ser Tyr Phe Thr Tyr Met Thr Glu
 35 40 45

tta cat gaa gtt gct acc gaa cgg gtg gaa cct gag cat atc caa tat 192
 Leu His Glu Val Ala Thr Glu Arg Val Glu Pro Glu His Ile Gln Tyr
 50 55 60

gat ttg caa cgg ttg ttc gca cgg cga aaa aac gtt cgt ctc gtg acc 240

Asp Leu Gln Arg Leu Phe Ala Arg Arg Lys Asn Val Arg Leu Val Thr			
65	70	75	80
gat acc gtg acg ggc atc gac aaa aag gca caa aca gtt act acc gaa			288
Asp Thr Val Thr Gly Ile Asp Lys Lys Ala Gln Thr Val Thr Glu			
85	90	95	
cac gga agt tat caa tat gat caa ctt tta att agt ttg ggt ggg gaa			336
His Gly Ser Tyr Gln Tyr Asp Gln Leu Leu Ile Ser Leu Gly Gly Glu			
100	105	110	
tcc aat gac ttt ggg act ccc ggt gtt aag gaa cac ggc ttc gaa ttg			384
Ser Asn Asp Phe Gly Thr Pro Gly Val Lys Glu His Gly Phe Glu Leu			
115	120	125	
tgg tcc ttc gaa caa gcg atg gca ttg cgc gct cac tta tct gca att			432
Trp Ser Phe Glu Gln Ala Met Ala Leu Arg Ala His Leu Ser Ala Ile			
130	135	140	
att cgg cgg ggg gcg gag ctc gac cct gct aag cgc aaa gcc atg			480
Ile Arg Arg Gly Ala Ala Glu Leu Asp Pro Ala Lys Arg Lys Ala Met			
145	150	155	160
ttg acc ttt aca gtc tgt ggt tct ggt ttt act ggt tct gaa ctg att			528
Leu Thr Phe Thr Val Cys Gly Ser Gly Phe Thr Gly Ser Glu Leu Ile			
165	170	175	
ggt gaa tta atc gaa tat cgt gat gtt ttg gct cga gac aac aag ctc			576
Gly Glu Leu Ile Glu Tyr Arg Asp Val Leu Ala Arg Asp Asn Lys Leu			
180	185	190	
gat cca agt gaa atc acg ctc caa ttg gtc gaa gca gcg ccg act att			624
Asp Pro Ser Glu Ile Thr Leu Gln Leu Val Glu Ala Ala Pro Thr Ile			
195	200	205	
att aac atg ctc aac cgg acg caa gcc ggt aag gcc gct aag tac atg			672
Ile Asn Met Leu Asn Arg Thr Gln Ala Gly Lys Ala Ala Lys Tyr Met			
210	215	220	
gaa aaa cat ggt gtc aaa atc atg acg aac tcc atg att acc gaa gtc			720
Glu Lys His Gly Val Lys Ile Met Thr Asn Ser Met Ile Thr Glu Val			
225	230	235	240
tgt gaa gac cat gtt aac tta aaa ggc aag gat cca att cca acc tac			768
Cys Glu Asp His Val Asn Leu Lys Gly Lys Asp Pro Ile Pro Thr Tyr			
245	250	255	
acg tta atc tgg aca gcc ggt gtt cgt gct aat agt atc gtt aaa aag			816
Thr Leu Ile Trp Thr Ala Gly Val Arg Ala Asn Ser Ile Val Lys Lys			
260	265	270	

ttc ggc att gaa act aac ccc cgc ggt ggt cgcc ttg atg gcc aat gaa 864
 Phe Gly Ile Glu Thr Asn Pro Arg Gly Gly Arg Leu Met Ala Asn Glu
 275 280 285

ttc atg caa gct aag gat tgt aac aat atc ttc tta gcc ggt gat tca 912
 Phe Met Gln Ala Lys Asp Cys Asn Asn Ile Phe Leu Ala Gly Asp Ser
 290 295 300

acc agc tac caa gaa cct gac caa cca cgg cca gtc cca caa atc gtt 960
 Thr Ser Tyr Gln Glu Pro Asp Gln Pro Arg Pro Val Pro Gln Ile Val
 305 310 315 320

caa ggg gct gaa gaa acc gca gct aag gcc gtc gaa ggt att att aag 1008
 Gln Gly Ala Glu Glu Thr Ala Ala Lys Ala Val Glu Gly Ile Ile Lys
 325 330 335

aac gtt gac cag act gac gtt acg atc aag cca ttt aag ggc gct tat 1056
 Asn Val Asp Gln Thr Asp Val Thr Ile Lys Pro Phe Lys Gly Ala Tyr
 340 345 350

caa gca tcc gtc gac tca att ggt tcc aaa tat gcc gtt gca caa gtt 1104
 Gln Ala Ser Val Asp Ser Ile Gly Ser Lys Tyr Ala Val Ala Gln Val
 355 360 365

tta gag aag tgg aac gtc tct ggt ttt att gcc gtg ctt tta aaa cac 1152
 Leu Glu Lys Trp Asn Val Ser Gly Phe Ile Ala Val Leu Leu Lys His
 370 375 380

gcc atc aac tgg atg tac tac gtt cag att ttc tca ggt tac tac cta 1200
 Ala Ile Asn Trp Met Tyr Tyr Val Gln Ile Phe Ser Gly Tyr Tyr Leu
 385 390 395 400

ttc cag tac ttc atg cac gaa ttc ttc cgg act cgt aat aac cgt aac 1248
 Phe Gln Tyr Phe Met His Glu Phe Phe Arg Thr Arg Asn Asn Arg Asn
 405 410 415

gtc ttc cgc ggt tgg gtc tca cgg gct ggt aac gta ctc tgg agt gtg 1296
 Val Phe Arg Gly Trp Val Ser Arg Ala Gly Asn Val Leu Trp Ser Val
 420 425 430

cca ctg cgg ttc ttc tat ggt gcc atg tgg tta tgg gac tgc tgg act 1344
 Pro Leu Arg Phe Phe Tyr Gly Ala Met Trp Leu Trp Asp Cys Trp Thr
 435 440 445

aaa gtt cag gga tct gaa tcc tgg ttc act gac aag tta cgg tta cca 1392
 Lys Val Gln Gly Ser Glu Ser Trp Phe Thr Asp Lys Leu Arg Leu Pro
 455 460

ttc gaa tgg att acc gtg gcc gca acc agt ggt gcc tct caa gca act 1440

Phe Glu Trp Ile Thr Val Ala Ala Thr Ser Gly Ala Ser Gln Ala Thr			
465	470	475	480
aaa gcc gct gca acc agt ggt gct tct gaa gct gcc acg tca acc gtt			1488
Lys Ala Ala Ala Thr Ser Gly Ala Ser Glu Ala Ala Thr Ser Thr Val			
485	490	495	
aaa gcc gct aag ggt gtc ttc agt ctt tca tac atg tac ggt aaa gaa			1536
Lys Ala Ala Lys Gly Val Phe Ser Leu Ser Tyr Met Tyr Gly Lys Glu			
500	505	510	
ccc ctg atg gtc ttt gac aaa atg cca cat tgg ttc gaa tca att acc			1584
Pro Leu Met Val Phe Asp Lys Met Pro His Trp Phe Glu Ser Ile Thr			
515	520	525	
aag gtc ttc att ccg aac atg caa atg gcc ctc ttc cag aaa ttc			1632
Lys Val Phe Ile Pro Asn Met Gln Met Ala Leu Phe Phe Gln Lys Phe			
530	535	540	
atg act tgt gtt gaa atc gtc att gca tta tgt att ttc ttc gga ctc			1680
Met Thr Cys Val Glu Ile Val Ile Ala Leu Cys Ile Phe Phe Gly Leu			
545	550	555	560
ttt act tgg ttt gct aac gca gtc acc att ggc tta gtt gtc gtc ttc			1728
Phe Thr Trp Phe Ala Asn Ala Val Thr Ile Gly Leu Val Val Phe			
565	570	575	
tgc tta tct ggc atg ttc tac tgg gtc aac att tgg atg atc ttt gtt			1776
Cys Leu Ser Gly Met Phe Tyr Trp Val Asn Ile Trp Met Ile Phe Val			
580	585	590	
gcc ctc gcc tta atg aac ggt tcc gga cgg aca ttt ggg tta gac tac			1824
Ala Leu Ala Leu Met Asn Gly Ser Gly Arg Thr Phe Gly Leu Asp Tyr			
595	600	605	
tgg gtc gtt ccg tgg atg caa aaa cac ctt gga cac tgg tgg tac ggc			1872
Trp Val Val Pro Trp Met Gln Lys His Leu Gly His Trp Trp Tyr Gly			
610	615	620	
aac gtt cgt tct cat tac gac ggt gtt aaa acc acc cgc			1908
Asn Val Arg Ser His Tyr Asp Gly Val Lys Thr Arg			
625	630	635	

<210> 16

<211> 636

<212> PRT

<213> Lactobacillus plantarum WCFS1

<400> 16

Met Ala Lys Lys Asn Ile Val Val Val Gly Ala Gly Phe Ala Gly Val

1	5	10	15												
Tyr	Ala	Thr	Lys	Lys	Leu	Ser	Lys	His	Phe	Lys	Lys	Asn	Ala	Asp	Val
			20				25					30			
Glu	Ile	Thr	Leu	Ile	Asp	Arg	His	Ser	Tyr	Phe	Thr	Tyr	Met	Thr	Glu
				35			40					45			
Leu	His	Glu	Val	Ala	Thr	Glu	Arg	Val	Glu	Pro	Glu	His	Ile	Gln	Tyr
				50			55				60				
Asp	Leu	Gln	Arg	Leu	Phe	Ala	Arg	Arg	Lys	Asn	Val	Arg	Leu	Val	Thr
				65			70			75		80			
Asp	Thr	Val	Thr	Gly	Ile	Asp	Lys	Lys	Ala	Gln	Thr	Val	Thr	Thr	Glu
				85			90				95				
His	Gly	Ser	Tyr	Gln	Tyr	Asp	Gln	Leu	Leu	Ile	Ser	Leu	Gly	Gly	Glu
				100			105				110				
Ser	Asn	Asp	Phe	Gly	Thr	Pro	Gly	Val	Lys	Glu	His	Gly	Phe	Glu	Leu
				115			120			125					
Trp	Ser	Phe	Glu	Gln	Ala	Met	Ala	Leu	Arg	Ala	His	Gly	Phe	Glu	Leu
				130			135			140					
Ile	Arg	Arg	Gly	Ala	Ala	Glu	Leu	Asp	Pro	Ala	Lys	Arg	Lys	Ala	Met
				145			150			155		160			
Leu	Thr	Phe	Thr	Val	Cys	Gly	Ser	Gly	Phe	Thr	Gly	Ser	Glu	Leu	Ile
				165			170				175				
Gly	Glu	Leu	Ile	Glu	Tyr	Arg	Asp	Val	Leu	Ala	Arg	Asp	Asn	Lys	Leu
				180			185			190					
Asp	Pro	Ser	Glu	Ile	Thr	Leu	Gln	Leu	Val	Glu	Ala	Ala	Pro	Thr	Ile
				195			200			205					
Ile	Asn	Met	Leu	Asn	Arg	Thr	Gln	Ala	Gly	Lys	Ala	Ala	Lys	Tyr	Met
				210			215			220					
Glu	Lys	His	Gly	Val	Lys	Ile	Met	Thr	Asn	Ser	Met	Ile	Thr	Glu	Val
				225			230			235		240			
Cys	Glu	Asp	His	Val	Asn	Leu	Lys	Gly	Lys	Asp	Pro	Ile	Pro	Thr	Tyr
				245			250			255					
Thr	Leu	Ile	Trp	Thr	Ala	Gly	Val	Arg	Ala	Asn	Ser	Ile	Val	Lys	Lys
				260			265			270					

Phe Gly Ile Glu Thr Asn Pro Arg Gly Gly Arg Leu Met Ala Asn Glu
275 280 285

Phe Met Gln Ala Lys Asp Cys Asn Asn Ile Phe Leu Ala Gly Asp Ser
290 295 300

Thr Ser Tyr Gln Glu Pro Asp Gln Pro Arg Pro Val Pro Gln Ile Val
305 310 315 320

Gln Gly Ala Glu Glu Thr Ala Ala Lys Ala Val Glu Gly Ile Ile Lys
325 330 335

Asn Val Asp Gln Thr Asp Val Thr Ile Lys Pro Phe Lys Gly Ala Tyr
340 345 350

Gln Ala Ser Val Asp Ser Ile Gly Ser Lys Tyr Ala Val Ala Gln Val
355 360 365

Leu Glu Lys Trp Asn Val Ser Gly Phe Ile Ala Val Leu Leu Lys His
370 375 380

Ala Ile Asn Trp Met Tyr Tyr Val Gln Ile Phe Ser Gly Tyr Tyr Leu
385 390 395 400

Phe Gln Tyr Phe Met His Glu Phe Phe Arg Thr Arg Asn Asn Arg Asn
405 410 415

Val Phe Arg Gly Trp Val Ser Arg Ala Gly Asn Val Leu Trp Ser Val
420 425 430

Pro Leu Arg Phe Phe Tyr Gly Ala Met Trp Leu Trp Asp Cys Trp Thr
435 440 445

Lys Val Gln Gly Ser Glu Ser Trp Phe Thr Asp Lys Leu Arg Leu Pro
450 455 460

Phe Glu Trp Ile Thr Val Ala Ala Thr Ser Gly Ala Ser Gln Ala Thr
465 470 475 480

Lys Ala Ala Ala Thr Ser Gly Ala Ser Glu Ala Ala Thr Ser Thr Val
485 490 495

Lys Ala Ala Lys Gly Val Phe Ser Leu Ser Tyr Met Tyr Gly Lys Glu
500 505 510

Pro Leu Met Val Phe Asp Lys Met Pro His Trp Phe Glu Ser Ile Thr
515 520 525

Lys Val Phe Ile Pro Asn Met Gln Met Ala Leu Phe Phe Gln Lys Phe
530 535 540

Met Thr Cys Val Glu Ile Val Ile Ala Leu Cys Ile Phe Phe Gly Leu
545 550 555 560

Phe Thr Trp Phe Ala Asn Ala Val Thr Ile Gly Leu Val Val Val Phe
565 570 575

Cys Leu Ser Gly Met Phe Tyr Trp Val Asn Ile Trp Met Ile Phe Val
580 585 590

Ala Leu Ala Leu Met Asn Gly Ser Gly Arg Thr Phe Gly Leu Asp Tyr
595 600 605

Trp Val Val Pro Trp Met Gln Lys His Leu Gly His Trp Trp Tyr Gly
610 615 620

Asn Val Arg Ser His Tyr Asp Gly Val Lys Thr Arg
625 630 635

【書類名】要約書

【要約】

【課題】

本発明の目的は、工業的に有利なL-アミノ酸の製造法を提供することにある。

【解決手段】

好気性細菌の電子伝達系においてプロトンポンプとして作用するNADHデヒドロゲナーゼ複合体のうち、電子1個あたり排出できるプロトン分子数がゼロであるNADHデヒドロゲナーゼ複合体を構成するNADHデヒドロゲナーゼをコードするDNAを導入して得られる微生物を培地に培養し、培養物中にL-アミノ酸を生成、蓄積させ、該培養物よりL-アミノ酸を採取することを特徴とするL-アミノ酸の製造法を提供する。

【選択図】 なし

特願 2004-053361

出願人履歴情報

識別番号 [000001029]

1. 変更年月日 1990年 8月 6日

[変更理由] 新規登録

住 所 東京都千代田区大手町1丁目6番1号

氏 名 協和醸酵工業株式会社